

Capsaicinoide in *Capsicum*-Früchten definierter Herkunft und  
ihre Stabilität bei Verarbeitung und Lagerung

Vom Fachbereich Mathematik und Naturwissenschaften  
der Bergischen Universität Wuppertal  
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Naturwissenschaften  
-Dr. rer. nat.-  
genehmigte Dissertation

von  
**Constanze Hiepler**  
Wuppertal  
2004

## **Abstract**

Capsaicinoids are found only in the fruits of *Capsicum* plants. While their biosynthesis is largely established, accumulation and degradation are still not completely understood. Some study groups assume hot pepper peroxidases are responsible for the degradation.

In a two year study the capsaicinoid contents of more than 400 individual fruits, representing the whole harvest of seven plants, were investigated with regard to dependence on fruit age and fruit position. Capsaicinoid contents in fruits of the same plant harvested at the same day differed considerably, although mean values and range were similar in both years. Due to the wide heterogeneity no dependence of capsaicinoid levels on fruit age or node position was observed. The statistical evaluation illustrated the problem to obtain representative values. Highly varying pungency contents of individual fruits may lead to mistakes when taking samples which are composed of only a small number of fruits for the observation of biosynthesis, degradation curves and environmental influences. In future experiments heterogeneity and natural fluctuation in individual fruits have to be considered during planing and evaluation.

The storage of minced and homogenised fruit material showed that enzymes take part in the reduction of capsaicinoid content. Storage parameters that are favourable to peroxidases led to a fast loss of pungency. Intensity of degradation varied with fruit age: minced material from young fruits showed the fastest and strongest loss of capsaicinoids, while capsaicinoids in material from old fruits were not degraded. Subsets of isozymes expressed at different times and locations, e. g. outer cuticle of the pericarp, may contribute.

Cellular disruption was always a pre-requisite, an enzymatic metabolism in the intact fruit was not observed.

## **DANK**

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Januar 2001 bis Dezember 2003 im Fachbereich C / Lebensmittelchemie der Bergischen Universität Wuppertal angefertigt.

An dieser Stelle möchte ich Herrn Professor Dr. Michael Petz dafür danken, dass er mir das Thema dieser Arbeit zur weitgehend selbständigen Bearbeitung überlassen hat und mir bei der Durchführung beratend zur Seite stand.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. Erika Müller-Seitz für die zahlreichen Diskussionen, die hilfreichen Ratschläge und die stete Betreuung.

Auch den Mitarbeitern des Fachbereichs Botanik der Bergischen Universität Wuppertal sowie Herrn Olaf Putsch fühle ich mich für die fachliche Beratung und die Unterstützung bei der Aufzucht der Paprikapflanzen zu Dank verpflichtet.

Herrn Thomas Jaekel und Frau Ariane Stoll möchte ich für ihre im Rahmen des studentischen Praktikums an der Bergischen Universität Wuppertal geleistete Mitarbeit meinen Dank aussprechen.

Meinen Kolleginnen und Kollegen danke ich für die zuverlässige Zusammenarbeit und das freundschaftliche Arbeitsklima, in dem diese Arbeit entstanden ist.

Ein herzliches Dankeschön möchte ich meiner Mutter widmen, die mir meine akademische Laufbahn ermöglicht hat und darüber hinaus immer ein offenes Ohr für mich hat.

Ihnen allen sei an dieser Stelle herzlich gedankt.

Wuppertal, März 2004

Constanze Hiepler

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b> .....	<b>1</b>
1.1	Herkunft und Verbreitung der Paprikafrucht .....	1
1.2	Taxonomie .....	2
1.3	Botanik .....	5
1.4	Anatomie einer Chilifrucht .....	8
1.5	Anbau im Gewächshaus .....	10
1.6	Ernte .....	12
1.7	<b>Scharfstoffe</b> .....	<b>13</b>
1.7.1	Struktur und Capsaicinoidmuster .....	14
1.7.2	Lokalisation/Verteilung in Pflanze und Frucht .....	16
1.7.3	Biosynthese .....	17
1.7.4	Capsaicinoidgehalte während der Fruchtentwicklung und –reife .....	20
1.7.5	Ökologische Einflüsse .....	23
1.7.6	Stabilität der Capsaicinoide .....	25
1.7.7	Physiologische Eigenschaften .....	28
1.7.8	Analytik .....	31
1.8	<b>Zielsetzung</b> .....	<b>33</b>
<b>2</b>	<b>UNTERSUCHUNGEN UND ERGEBNISSE</b> .....	<b>35</b>
2.1	<b>Heterogenität im Capsaicinoidgehalt von Gewürzpaprikafrüchten</b>	
	<b>identischer Herkunft: Nodium und Erntezeitpunkt</b> .....	<b>35</b>
2.1.1	Ausgangslage .....	35
2.1.2	Anbau 2001 .....	36
2.1.3	Anbau 2002 .....	46

<b>2.2</b>	<b>Abnahme des Capsaicinoidgehaltes bei unterschiedlichen Lagerungsbedingungen nach Zerkleinerung der Gewürzpaprikafrüchte</b> .....	<b>49</b>
2.2.1	Ausgangslage .....	49
2.2.2	Lagerung von 2 cm-Stücken.....	52
2.2.3	Capsaicinoidmuster während der Lagerung .....	55
2.2.4	Lagerung mit 0,3 mmolarer Wasserstoffperoxidlösung .....	58
2.2.5	Lagerung unter Stickstoff und Sauerstoff.....	60
2.2.6	Lagerung bei eingestellter Luftfeuchte.....	61
2.2.7	Lagerung nach Gefriertrocknung .....	65
2.2.8	Lagerung geschälter Früchte .....	71
2.2.9	Lagerung bei verschiedenen Temperaturen .....	74
2.2.10	Lagerung nach dem Einfrieren .....	76
2.2.11	Peroxidasetest .....	78
<b>2.3</b>	<b>Abnahme des Capsaicinoidgehaltes nach Zerkleinerung und Lagerung von Gewürzpaprikafrüchten unterschiedlichen Alters</b> .....	<b>83</b>
<b>3</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	<b>86</b>
<b>3.1</b>	<b>Heterogenität im Capsaicinoidgehalt von Gewürzpaprikafrüchten identischer Herkunft: Nodium und Erntezeitpunkt</b> .....	<b>86</b>
<b>3.2</b>	<b>Abnahme des Capsaicinoidgehaltes bei unterschiedlichen Lagerungsbedingungen nach Zerkleinerung der Gewürzpaprikafrüchte</b> .....	<b>94</b>
<b>4</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>104</b>
<b>5</b>	<b>ARBEITSVORSCHRIFTEN</b> .....	<b>107</b>
5.1	Reagenzien und Lösungsmittel .....	107
5.2	Glasgeräte und Laborbedarf .....	107
5.3	Technische Laborgeräte.....	108
5.4	HPLC .....	109
5.4.1	Chromatographische Ausrüstung .....	109
5.4.2	Quantifizierung .....	110

5.4.3	Berechnung des Capsaicinoidgehaltes .....	110
<b>5.5</b>	<b>Lagerung von 2 cm großen Stücken und ihrer zugehörigen Hälften ....</b>	<b>112</b>
<b>5.6</b>	<b>Probenaufarbeitung: Lagerstudien mit zerkleinerten Früchten.....</b>	<b>112</b>
5.6.1	Zugabe von 0,3 mmolarer Wasserstoffperoxid-Lösung .....	113
5.6.2	Lagerung unter Stickstoff und Sauerstoff.....	113
5.6.3	Lagerung von gefriergetrocknetem Fruchtmaterial .....	116
5.6.4	Entfernung der Schale .....	117
5.6.5	Lagerung bei unterschiedlichen Temperaturen .....	118
5.6.6	Einfrieren .....	118
5.6.7	Lagerung selbst angebauter Früchte.....	119
<b>5.7</b>	<b>Aufarbeitung selbst angebauter Früchte .....</b>	<b>119</b>
<b>5.8</b>	<b>Weitere Aufarbeitung.....</b>	<b>120</b>
<b>5.9</b>	<b>Messung des <math>a_w</math>-Wertes .....</b>	<b>122</b>
<b>5.10</b>	<b>Peroxidasetest.....</b>	<b>123</b>
5.10.1	Phosphatpuffer (10 mmol/L; pH 7,2).....	123
5.10.2	Citratpuffer (210 mmol/L; pH 4) mit Wasserstoffperoxid (0,315 mmol/L) 123	
5.10.3	Farbreagenz.....	123
5.10.4	Kalibriergerade mit Meerrettichperoxidase.....	123
5.10.5	Probenaufarbeitung .....	124
5.10.6	Testdurchführung.....	126
<b>5.11</b>	<b>Pflanzenanbau.....</b>	<b>126</b>
5.11.1	Aufzucht und Pflege der Pflanzen.....	126
5.11.2	Gewächshausparameter.....	127
5.11.3	Bezug der Samen .....	128
5.11.4	Verwendete Erde .....	128
5.11.5	Düngung .....	129
<b>5.12</b>	<b>Verwendete Software.....</b>	<b>129</b>
<b>6</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>130</b>

<b>7</b>	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>135</b>
<b>8</b>	<b>TABELLENVERZEICHNIS.....</b>	<b>138</b>
<b>9</b>	<b>ANHANG.....</b>	<b>139</b>
<b>9.1</b>	<b>Botanisch-taxonomische Merkmale.....</b>	<b>139</b>
<b>9.2</b>	<b>Fließdiagramme.....</b>	<b>140</b>
9.2.1	Sibirische Hauspaprika, Pflanze a (Anbaujahr 2001) .....	140
9.2.2	Sibirische Hauspaprika, Pflanze b (Anbaujahr 2001) .....	141
9.2.3	Sibirische Hauspaprika (Anbaujahr 2002) .....	142
9.2.4	Cayenne, Pflanze a (Anbaujahr 2001).....	143
9.2.5	Cayenne, Pflanze b (Anbaujahr 2001).....	144
9.2.6	De Arból, Pflanze a (Anbaujahr 2001) .....	145
9.2.7	De Arból, Pflanze b (Anbaujahr 2001) .....	147
<b>9.3</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>148</b>

# 1 EINLEITUNG

Die Paprikafrucht ist seit nahezu 10 000 Jahren Bestandteil der menschlichen Ernährung, in Europa aber ein junges Gewürz, das erst durch die Entdeckung Amerikas zu uns kam.<sup>1</sup> Da viele Paprikasorten scharf sind, bezeichnete man sie bald nach ihrer Entdeckung als *Pfeffer*, *Peppers* (engl.), *Peperone* (ital.), *Paprika* (ungar.), *Peppar* (skand.), *Pimienta* (span.) und *Poivre* (franz.). Biologisch ist die Paprika aber in keiner Weise mit dem allseits bekannten Pfeffer (*Piper nigrum*) verwandt.<sup>2</sup>

Die Paprika gehört zur Gattung *Capsicum*, die für eine vielfältige Pflanzengruppe steht.<sup>3</sup> Die sehr verschiedenartigen Gewächse unterscheiden sich nicht nur durch Form und Größe der Staude und der Frucht, sondern auch durch Blüten- und Fruchtfarbe, Gehalt an Aroma- und Scharfstoffen, Ertragshöhe und Verwendungsmöglichkeiten. Es gibt ein- und mehrjährige *Capsicum*-Arten, wildwachsende und angebaute, mit milden und scharfen, großen und kleinen Früchten.<sup>4</sup>

Es ist schon seit langem bekannt, dass Pflanzen der Gattung *Capsicum* in den Früchten Scharfstoffe bilden, diese als Sekret ausscheiden und anreichern.<sup>5</sup> Die scharf schmeckenden Früchte, die unter den Namen (Gewürz-) *Paprika*, *Peperoni* und *Chil(l)i* bekannt sind, werden als Würzmittel in Lebensmitteln, als Farbstoff in Kosmetika und als lokaler Wärmeentwickler in Medikamenten verwendet. Darüber hinaus sind Paprikafrüchte reichhaltige Quellen an Vitaminen, besonders Vitamin C in grünen, unreifen Früchten und Provitamin A in roten, reifen Früchten.<sup>6</sup>

## 1.1 Herkunft und Verbreitung der Paprikafrucht

Die Heimat der Paprikapflanze dürfte nach *Heiser*<sup>7</sup> Kolumbien sein. Von dort hat sich später die kleinfruchtige Wildform *Capsicum annuum* var. *aviculare* Dierb.\* nordwärts von Südamerika (Brasilien, Guayana, Venezuela) durch Mittelamerika (Antillen, Costa Rica, Guatemala, Mexiko) bis in die Südstaaten der USA verbreitet.<sup>1,9</sup>

Seit 1542 wird die Paprikapflanze in Spanien angebaut. Von dort aus wurde innerhalb von 150 Jahren ihr Anbau in der Garten- und Feldwirtschaft in Südeuropa, Afrika und Asien verbreitet.<sup>10,11</sup>

---

\* Johann Heinrich Dierbach (1788-1845), Pflanzensystematiker<sup>8</sup>

Die kultivierten Abkömmlinge der *Capsicum*-Pflanze sind heute in allen wärmeren Ländern und an vielen Orten der gemäßigten Zonen heimisch. Der Paprikaanbau zu Gewürz- und Gemüse Zwecken steigt jährlich stark an. Die bedeutendsten europäischen Anbauggebiete findet man in Spanien, Ungarn, Rumänien, Bulgarien, Jugoslawien, Griechenland, Italien und Südfrankreich. Aber auch in Indien, in Ostasien und in den südlichen USA wird Paprika kultiviert.<sup>12, 13</sup> Die weltweiten Hauptproduzenten waren 2001 China (8 328 t) und die Türkei (1 400 t) gefolgt von Spanien (965 t), Mexiko (904 t), den USA (886 t) und Nigeria (715 t).<sup>14</sup>

Entsprechend der langen Zeit ihrer Kultivierung in vielen verschiedenen Gebieten der Welt trat eine starke Hybridisierung auf.<sup>15</sup> Obwohl es zwischen 300 und 500 Chilisorten gibt – allein in Mexiko sind es mehr als 100 – konzentrieren sich die internationalen Küchen auf eine wesentlich kleinere Anzahl. Dabei existieren jedoch von Land zu Land Schwerpunkte, die in ihrer ursprünglichen Heimat in erster Linie von der regionalen Verfügbarkeit der Chilisorten geprägt wurden. So werden in Mexiko verstärkt *Poblano*, *Ancho*, *Jalapeño*, *Chipotle*, *Chile de Arbol*, *Habanero* und *Pequin*, in Südamerika *Aji* und in den USA *New Mexican (Anaheim)* sowie *Jalapeño* eingesetzt. In der Karibik dominieren die scharfen *Scotch Bonnets*, in Südeuropa und auf dem Balkan milde und schärfere Paprika, Peperone und Peperoncini. In Indien, Fernost und Afrika wird mit scharfen Schoten gekocht, die sich regional aus dem südamerikanischen *Cayenne* entwickelt haben.<sup>2</sup>

## **1.2 Taxonomie**

Botanisch gehört die Paprika zur Familie der Nachtschattengewächse (*Solanaceae*), die zum einen Giftpflanzen wie Bilsenkraut und Tollkirsche, aber auch viele Nutzpflanzen wie die Kartoffel (*Solanum tuberosum* L.<sup>†</sup>), Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.<sup>‡</sup>), Tabak (*Nicotiana tabacum* L.) und die vielen Arten der Gattung *Capsicum* umfasst.<sup>2, 16, 17</sup>

---

<sup>†</sup> Carl von Linné (1707-1778): Pflanzensystematiker und Verfasser von „Species plantarum“<sup>8</sup>

<sup>‡</sup> Philip Miller (1691-1771): Pflanzensystematiker<sup>8</sup>

Das Genus „*Capsicum*“ wurde 1753 von dem schwedischen Botaniker *Carl von Linné* (1707-1778) geschaffen. Er stellte anhand des ihm vorliegenden Herbar-Materials drei Arten auf: *C. annuum*, *C. frutescens* und *C. baccatum*. Inzwischen sind weitere 30 Arten beschrieben worden<sup>9, 13</sup>, von denen jedoch lediglich eine Handvoll kultiviert wird:

- C. annuum* L. – weltweit
- C. frutescens* L. – weltweit
- C. chinense* N. Jacq.<sup>§</sup> – Süd- und Mittelamerika
- C. baccatum* L. – Afrika und Asien
- C. pubescens* Ruiz & Pavon<sup>\*\*</sup> – Afrika und Asien.<sup>6, 18</sup>

Von diesen fünf Arten ist *Capsicum annuum* die am stärksten kultivierte Spezies<sup>16</sup> mit Varietäten, die in Europa und den USA angebaut werden. *C. annuum* schließt auch die meisten schärfefreien Varietäten der Paprika mit ein.<sup>6, 15</sup> Praktisch alle Chilisorten, die man in Europa frisch, eingelegt oder getrocknet kaufen kann, gehören zur Art *C. annuum*: z. B. *Gemüsepaprika*, *Anaheim*, *Peperone* und *Jalapeño*. Urpflanze der meisten scharfen Chilisorten ist die zu *Capsicum annuum* gehörige Varietät *glabriusculum* (*Chiltepin*) mit scharfen roten, etwa erbsengroßen Früchten. Eine Varietät von *Capsicum annuum* (*C. annuum* var. *minimum*), die *bird pepper* genannt wird und im Gebiet zwischen dem nördlichen Südamerika bis in die USA wächst, wird als nahe Verwandte dieser ursprünglichen *Capsicum*-Pflanze vermutet.<sup>15</sup>

In einer weiteren Kategorisierung bemühten sich die Botaniker, die vielen Varietäten von *C. annuum* ihrer Form nach in fünf Gruppen zu unterteilen: kirschförmig (*cerasiform*), zapfenförmig (*conioides*), zapfenförmig/rot (*fasciculatum*), groß/süß (*grossum*) und lang (*longum*).<sup>2</sup> Diese Einteilung wird heutzutage aber nicht mehr verwendet: das aktuelle System gibt die Gattung (auch: Genus), die Art (auch: Spezies), die Varietät und das Kultivar an<sup>13</sup>: z. B. *Capsicum annuum* var. *annuum* cv. *Padrón*.

Zu *Capsicum frutescens* gehören viele sehr scharfe Chilisorten, z. B. *Tabasco* und viele Zierpfeffer-Sorten. Chilis dieser Art werden in hohem Maße in den wärmeren Regionen Indiens, Japans, Chinas, Mexikos und der Türkei angebaut.

<sup>§</sup> Nicolaus Joseph von Jacquin (1727-1817): Pflanzensystematiker<sup>8</sup>

<sup>\*\*</sup> Hipólito Ruiz-López (1754-1815) & José Antonio Pavón (1754-1844): Pflanzensystematiker<sup>8</sup>

Bei *Capsicum baccatum* („beerenähnlich“) handelt es sich um strauchige, mehrjährige Pflanzen, die bis zu 0 °C winterhart sind. Drei wildwachsende Varietäten wurden entdeckt: *Capsicum baccatum* var. *baccatum*, *Capsicum baccatum* var. *microcarpum* und *Capsicum baccatum* var. *pendulum*. In die letztgenannte Gruppe fallen die südamerikanischen, in den Anden beheimateten *Aji*. Da für *C. baccatum* genauso viele Varietäten existieren wie für *C. annuum*, variieren die Scharfstoffgehalte von mild bis sehr scharf.<sup>6</sup>

Die Umschreibung *Capsicum chinense* („chinesisch“), auch als *C. sinense* bezeichnet, trifft nicht zu, da in diese Gruppe äußerst scharfe Chilis wie die *Habanero* und *Scotch Bonnet* gehören, die in Mittel- und Südamerika bzw. in der Karibik zu Hause sind, jedoch nicht aus Asien stammen.<sup>2</sup> *C. chinense* ist nah verwandt mit *C. frutescens* und wächst überwiegend im tropischen Südamerika, normalerweise im Tiefland.<sup>15</sup>

Die Art *Capsicum pubescens* („haarig“) erhielt ihren Namen wegen der behaarten Blätter, die diese Gruppe kennzeichnen. Sie ist vor allem auf die Anden Südamerikas begrenzt<sup>15</sup>; hierzu gehören die südamerikanischen *Rocoto*. Als einzige der fünf Kulturformen gilt diese Art als frosthart (bis -5 °C) und soll sich sogar als Spalierpflanze eignen, die zurück geschnitten werden kann. *C. pubescens* ist wesentlich unempfindlicher gegenüber der Temperatur als *C. annuum*, *frutescens* und *chinense*, die keinerlei Frost vertragen.<sup>2</sup>

Es dürfte historisch bedingt sein, dass die Art *Capsicum annuum* weltweit am stärksten verbreitet ist. Sie wurde im Laufe der Eroberung Amerikas etwas früher entdeckt als die wenig später in Südamerika aufgefundenen Pflanzen der Arten *Capsicum chinense* und *Capsicum frutescens* und wurde weltweit über die Handelschifffahrt verbreitet.<sup>2</sup>

Die ungewöhnlich hohe Zahl an Synonymen und die zum Teil ungenauen Charakterisierungen in der Namensgebung zeigen, wie schwer sich Systematiker tun, „Ordnung“ in die Gattung *Capsicum* zu bringen und die Kultivare nomenklatorisch zu definieren.<sup>6</sup> Im Widerspruch zueinander stehen Überlegungen, ob sich *Capsicum annuum*, *chinense* und *frutescens* in eben diese Arten unterteilen lassen,

ob es sich nicht vielmehr um Varietäten derselben Art handelt und wie sich dank verbesserter genetischer Forschungsmethoden neue Varietäten und Arten einordnen lassen.<sup>2</sup> Inzwischen haben sich so viele Kultivare, Lokalsippen und Handelssorten differenziert, dass eine botanisch-taxonomische Erfassung der Formenvielfalt ganz unmöglich geworden ist.<sup>6</sup>

### 1.3 Botanik

Die Paprika ist eine zweikeimblättrige (dikotyle) Pflanze mit oberirdischer (epigäischer) Keimung. Trotz variierender Form und Größe sind die Keimblätter in der Mitte breit und werden zu den beiden Enden hin schmaler. Die meisten Wurzeln befinden sich unter der feuchten Oberfläche. Sie breiten sich horizontal bis zu einer Länge von 30-50 cm aus und wachsen 30-60 cm in den Boden hinein.<sup>13</sup>

Anfangs ist der junge Stamm recht karg und wird erst buschiger während des weiteren Wachstums. Sobald sich über der ersten Gabelung vier Blattachsen seitlich verzweigt haben, werden die Blüten gebildet. Die meisten *C. annuum*-Sorten entwickeln einen einzigen Stamm mit 8-15 Blättern, bevor die erste Blüte erscheint. Mit der Entwicklung der ersten Blütenknospe verzweigt die Stammspitze zwei- oder mehrmals. Jeder Trieb besitzt ein oder zwei Blätter und endet wiederum in einer Blüte, um sich erneut in die Verzweigungen (Nodium) zweiter Ordnung zu teilen. Im Laufe dieses Prozesses können Verzweigungen der 7.-11. Ordnung entstehen. Manchmal wird die Entwicklung einer Verzweigung unterdrückt, insbesondere ab der dritten oder höheren Ordnung, so dass das weitere Wachstum von den Seitenzweigen der nächst höheren Ordnung übernommen wird (Sympodium).<sup>13</sup>

Die Pflanzen besitzen buschig auswachsende Zweige, an denen sich die Blätter spiralförmig anordnen. Die Blätter unterscheiden sich in Größe, Form und Farbe. Die Blattform der meisten Pflanzen ist aber einfach und symmetrisch: eiförmig, elliptisch, breit-lanzettlich und zugespitzt.<sup>4, 12</sup> Die Blattoberfläche kann eben, glatt, faltig, haarig und unbehaart sein. Die Blattfarbe ist meistens mittel- bis dunkelgrün, selten purpurn, buntscheckig oder gelb.

Die Chilipflanzen beginnen die Blühphase meistens mit einer einzigen, selten mit zwei Blüten in der ersten Verzweigung. Anschließend bilden sich mit jedem zusätzlichen Nodium Blüten, so dass sich die Blütenanzahl entsprechend der Nodienzahl vervielfacht.<sup>6</sup> Üblicherweise sitzt bei *C. annuum* in jeder Verzweigung eine einzelne Blüte, aber es gibt auch Arten, die viele Blüten traubenartig in den Nodien angeordnet haben, z. B. *C. chinense*.<sup>9</sup>

Die meist zierlichen (ca. 10-15 mm Durchmesser), nicht duftenden Blüten sind fünfblättrig und haben einen unterständigen Fruchtknoten (hypogyn).<sup>2</sup> Ob die Blütenblätter einfarbig oder gefleckt sind, ist hilfreich für die taxonomische Einordnung.

Bis auf wenige wildwachsende Sorten, wie z. B. *C. buforum* und *C. cardenasii*<sup>19</sup>, sind Chilisorten in der Regel aufgrund zwittriger (hermaphroditisch) Blüten selbstbestäubend, d.h. zur fruchtbringenden Bestäubung sind keine weiteren Chilipflanzen erforderlich. Stehen die Chilipflanzen im Freien, übernehmen die diversen Insekten die Bestäubung, wohingegen im Gewächshaus manchmal mit einem weichen Haarpinsel nachgeholfen werden muss. Trotzdem sind die meisten Chilisorten sehr empfänglich für Fremdbestäubung und kreuzen sich gerne mit anderen Sorten. Ist Sortenreinheit erwünscht, müssen verschiedene Sorten isoliert gehalten werden, um eine Fremdbestäubung durch Insekten oder Wind zu vermeiden. Die reifenden Früchte einer fremdbestäubten Sorte selbst sind stets noch reine Exemplare der bestäubten Pflanze; erst die aus deren Samen gezüchteten Nachkommen (F1-Hybride) weisen gekreuzte Merkmale auf.<sup>2</sup>

Während die höchste Befruchtungsrate der Blüten vorliegt, wenn die Temperatur zwischen 16 und 32 °C liegt, tragen die Pflanzen eine maximale Blütenanzahl zwischen 16 und 21 °C. Bei nächtlichen Temperaturen über 24 °C werden die Blüten abgeworfen<sup>6</sup>, was ein allgemeines Problem bei heißem Wetter darstellt. Der Blütenabwurf ist damit der größte Faktor bei Ernteeinbußen. Blütenbildung und Pflanzenwachstum sind hingegen nicht beeinträchtigt. Nächtliche Lufttemperaturen über 32-38 °C hemmen die Befruchtung und die frühe Fruchtentwicklung nach der Bestäubung. Sobald die Nachttemperaturen aber wieder auf 16-21 °C fallen, steigt die Fruchtbildungsrate wieder an. Mögliche Erklärungen für den Blütenabwurf wären die erhöhte Transpiration der Pflanze oder der ungenügende Zuckertransport bei hohen Temperaturen.<sup>13</sup>

Weiterhin diskutieren *Erickson und Markhart*<sup>20</sup> aufgrund mikroskopischer Beobachtungen, ob die Pollenkörner in den Blütenknospen ca. 16-18 Tage vor der Blütezeit in ihrer Entwicklung gehemmt werden und somit unfruchtbar sind oder nach der Befruchtung zu gering ausgebildeten Früchten führen. *Usman et al.*<sup>21</sup> konnten aber entgegen dieser Ergebnisse keinen negativen Einfluss der Temperatur auf die Bestäubung und die Befruchtung erkennen, da sich die Pollen und Samen als lebensfähig erwiesen, und vermuten, dass biochemische Veränderungen im Prozess zur Fruchtbildung den Blütenabwurf verantworten.

Aus den Blüten entwickeln sich nicht sehr fleischige Beerenfrüchte.<sup>12</sup> Das ideale Frucht : Blatt-Verhältnis lautet 1 : 2. Es existiert eine immense Vielfalt in Fruchtformen (z. B. länglich, konisch, kegelförmig, glatt), -farben (z. B. kräftig rot, grün, gelb, schwarz, glänzend) und -größen. Bei den verschiedenen Sorten variiert die Fruchtlänge von weniger als 1 cm bis zu über 32 cm.<sup>13</sup>

Die Zeit von der Blüte bis zur vollständig ausgewachsenen Frucht kann sich bei den verschiedenen Fruchtarten beträchtlich unterscheiden. Wie in vielen Früchten verläuft die Fruchtwachstumskurve sigmoid.<sup>22-26</sup> Chilifrüchte wachsen normalerweise 4-5 Wochen, bis sie ihre endgültige Größe erreicht haben. Danach steigt das Fruchtgewicht, während sich die Fruchtwand immer mehr verdickt. Die Früchte erreichen üblicherweise den reifen Zustand 5-7 Wochen nach der Befruchtung der Blüte.<sup>6</sup> Unter Gewächshausbedingungen können aber mitunter auch elf Wochen von der Fruchtbildung bis zum Farbumschlag ins Rote vergehen. Der Zeitpunkt der Reife hängt von der Varietät und den Umweltbedingungen (z. B. von der Temperatur) während der Entwicklung ab.<sup>13</sup>

Die Blütenentwicklung scheint nicht von der Tageslänge sondern von der Lufttemperatur, besonders während der Nacht, abzuhängen. So blühen Chilis fleißig den ganzen Sommer über bis weit in den Herbst. Häufig entwickeln sich mehr als 100 Blüten an einer Pflanze. Auch nach dem Ansatz von Früchten setzt sich die Blüte fort. An ein und derselben Pflanze hat man daher Blüten und Früchte in den diversen Reifestadien (Abbildung 1).<sup>2</sup>



**Abbildung 1: Zeichnung einer blühenden Chilipflanze<sup>27</sup>**

Je mehr Früchte allerdings heranwachsen, umso weniger Blüten werden gebildet und befruchtet. Früchte, die sich aus den ersten Blüten entwickelt haben, sind im reifen Zustand häufig größer und intensiver rot.<sup>6</sup>

#### **1.4 Anatomie einer Chilifrucht**

Das Fruchttinnere aller Paprikasorten und –arten ist prinzipiell gleich. Abbildung 2 zeigt den Längsschnitt einer typischen Chilifrucht.

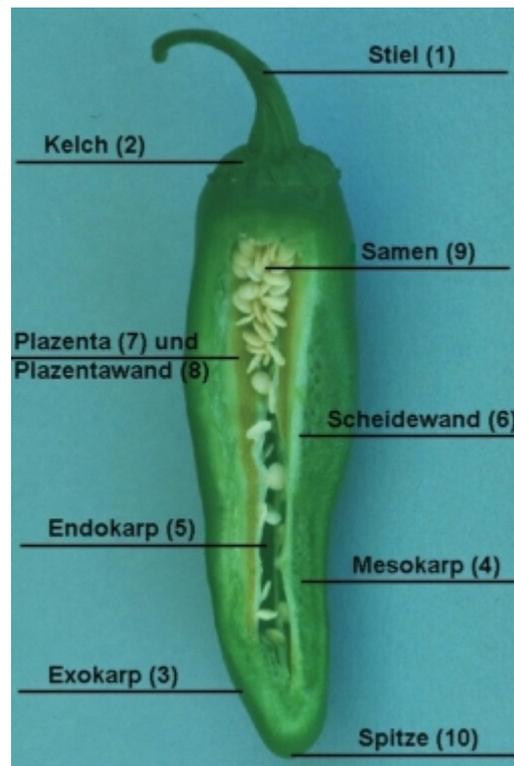


Abbildung 2: Längsschnitt einer Chilifrucht <sup>28</sup>

Die Frucht ist am **Stiel (1)** aufgehängt, an dem sie sich aus der befruchteten Blüte entwickelt. Die Anzahl der Stiele, die jeweils aus einem Zweigknoten wachsen, hängt von der *Capsicum*-Art ab und stellt demzufolge eines der Unterscheidungsmerkmale dar. An der Basis der Frucht befindet sich der fünfzipfelige **Kelch (2)** der ehemaligen Blüte, der bei den meisten Chilisorten gut ausgeprägt ist. Das Fruchtfleisch der Schoten wird in drei Schichten eingeteilt. Die glänzende **Außenhaut** (Exokarp) **(3)** schützt die Frucht vor dem Austrocknen und Beschädigungen. Darunter befindet sich die sortenabhängig dicke **Zwischenschicht** (Mesokarp) **(4)**. Das Fruchttinnere wird durch die **Innenhaut** (Endokarp) **(5)** abgegrenzt. Alle drei Schichten bilden zusammen das Perikarp. Die mehrfächerigen Früchte sind innen hohl <sup>29</sup> und haben zwei oder mehr **Fruchtscheidewände** (Plazentarleisten) **(6)**. Sie unterteilen die Schote in Kammern und sorgen für Stabilität.<sup>2</sup> Ausgehend vom Kelch erstreckt sich die **Plazenta (7)** in die Mitte des Hohlraumes. Auf ihr sitzen die weißen bis hellgelben, zahlreichen, scheibenförmigen **Samen (9)** (Durchmesser = 3,5 mm, Schichtdicke 0,5 bis 1,0 mm).<sup>1</sup> Die wichtigste Aufgabe der Plazenta ist es, Nährstoffe für die Samenentwicklung zu liefern.<sup>13</sup> Die **Plazentawand (8)** hat in der Epidermis schmale, radial gestreckte, dünnwandige Drüsenzellen, die die Capsaicinoide genannten

Scharfstoffe produzieren und die zwischen Zellwand und Cuticula ein gelbes, teilweise kristallines Öl mit den scharf schmeckenden Capsaicinoiden abscheiden.<sup>1</sup>

Die Hersteller von Paprikapulver machen sich zunutze, dass die Samen sowie Scheidewände aufgrund der räumlichen Nähe wesentlich capsaicinoidreicher und somit erheblich schärfer als das Fruchtfleisch sind. Je nach gewünschtem Schärfegrad werden Plazenta, Scheidewände und Samen aus den Früchten entfernt. Ein Verlust an Aromastoffen tritt in diesem Fall nicht auf, da sich diese im Fruchtfleisch befinden. Um die anhaftenden Capsaicinoide zu entfernen, werden die Samen teilweise gewaschen und je nach Handelssorte in unterschiedlichen Mengen wieder zugesetzt, da sie aufgrund ihres hohen Lipidgehaltes für eine gleichmäßige Verteilung der Carotinoide und für eine Farbvertiefung des Pulvers sorgen.<sup>30</sup>

Die **Spitze (10)** der Frucht läuft je nach Sorte abgerundet oder spitz zu. Als Teil der Gesamtf Fruchtform hilft sie, Chilisorten zu unterscheiden.<sup>2</sup>

## 1.5 Anbau im Gewächshaus

Weltweit führend im Chilianbau in Gewächshäusern sind die Niederlande<sup>31</sup>, gefolgt von Spanien. Gewächshäuser liefern optimale Wachstumsbedingungen für den Chilianbau. Sie schützen die Pflanzen vor ungünstigem Klima und ermöglichen das ganze Jahr höhere Temperaturen. Der Produzent kann Temperatur, Feuchtigkeit und Tageslänge kontrollieren. Der Anbau im Gewächshaus erfordert aber einen relativ hohen Einsatz an Nährstoffen und Energie für die optimale Kontrolle über das Wachstum und die Produktqualität.<sup>13</sup>

Die Lichtbedingungen sind genauso wichtig wie die Temperatur, da die Pflanzen genügend Licht benötigen, um ihr gesundes Wachstum aufrechtzuerhalten und Früchte während der gesamten Saison bilden zu können. Es wurden sogar Varietäten speziell für den Gewächshausanbau entwickelt, die bei den veränderten Lichtbedingungen (Lichtstreuung, Abwesenheit der kürzeren Wellenlängen) dennoch gut wachsen.<sup>13</sup>

Unter Gewächshausbedingungen können Chilipflanzen mehrjährig gehalten werden. Wenn es die Umstände (Gesundheit der Pflanzen, Wirtschaftlichkeit) rechtfertigen, kann eine Aussaat durchaus für einige Jahre bestehen, da sonst bei einem Pflanzenaustausch Kosten für Sterilisation, Aussaat und Fortpflanzung entstehen.<sup>13</sup>

Der Standort von Paprikapflanzen muss auf humosem, lockerem, mittelschwerem Boden mit einem pH-Wert zwischen 7,0 und 8,5 in sehr warmer, sonniger Lage sein<sup>11</sup>, da Chilipflanzen sehr empfindlich auf Frost reagieren, Chilिसamen in kalter Erde nur langsam keimen und im Temperaturbereich zwischen 5 und 15 °C nur noch spärlich wachsen, indem z. B. weniger Verzweigungen angelegt werden.<sup>32</sup> Die unterste tolerierbare Tagestemperatur beträgt 18 °C. Ab Temperaturen von 24-30 °C im Erdboden keimen die Samen in kürzester Zeit und die Pflanzen wachsen zügig. Zu hoch dürfen die Temperaturen aber auch nicht sein, da in Untersuchungen mit mehreren Varietäten herausgefunden wurde, dass die Keimung durch supraoptimale Temperaturen inhibiert wird. Ab Temperaturen von 30-40 °C fällt die Keimrate von – je nach Varietät – 80-100 % auf ca. 10 %.<sup>33</sup>

Deformierte und kranke Früchte sollten so schnell wie möglich entfernt werden. Seitentriebe werden ebenfalls schnellstmöglich abgeschnitten, um durch den besseren Lichtdurchlass eine stärkere Blütenentwicklung zu erzielen. Lediglich bei sehr starker Sonneneinstrahlung sollten die Blätter nicht entfernt werden, um Verbrennungen durch die Sonne zu vermeiden.<sup>13</sup>

Da Chilipflanzen ursprünglich aus den südamerikanischen Tropen stammen, in denen es den Sommer über täglich regnet, ist der Wasserbedarf der Pflanzen entsprechend hoch. Insbesondere während der Blüten- und Fruchtbildung kommt es bei trockener Erde zu enormem Blüten- und Fruchtabwurf. Andererseits mögen Chilipflanzen keine „nassen Füße“, da sonst die Wurzeln faulen können.<sup>2</sup>

Chilipflanzen haben einen hohen Bedarf an Haupt- und Minornährstoffen. Sie brauchen Stickstoff für das Blattwachstum und später für die Capsaicinoidsynthese in den Früchten, Nitrat für gesundes Wurzelwachstum und Phosphor für die Fruchtentwicklung. Weiterhin sollte es nicht an Kalium, Calcium und Magnesium mangeln.<sup>13</sup> Bioregulatoren (= Phytohormone) wie z. B. Gibberellinsäure, Indol-3-essigsäure und Naphthalinessigsäure bewirken beim Einsatz in Gewächshäusern die Ausbildung von Früchten mit hoher Stabilität und höheren Konzentrationen an organischen Säuren, Zuckern und Carotinoiden.<sup>34</sup> Wichtig für die Pigmentbildung in grünen und roten Früchten ist eine ausreichende Eisenversorgung.<sup>35</sup>

Allerdings besteht die Gefahr der Überdüngung. Geringe Mengen Stickstoff sind nützlich für Chilipflanzen, obwohl das Ziel, den Capsaicinoidgehalt durch gezielte Stickstoffsupplementierung zu erhöhen, in verschiedenen Arbeitsgruppen nicht verwirklicht werden konnte.<sup>26, 36</sup> Zuviel Stickstoff, insbesondere vor der Fruchtbildung, kann das Wachstum zu großen, buschigen Pflanzen mit üppigem Blattwuchs, aber wenigen Früchten überstimulieren. Darüber hinaus verzögert überschüssiger Stickstoff die Fruchtreife, so dass bei gleichzeitig hoher Luft- und Bodenfeuchtigkeit wässrige, spät reifende Früchte mit einem hohen Risiko an Pflanzen- oder Fruchtfäule entstehen.<sup>13</sup>

## 1.6 Ernte

Mit Ausnahme von Früchten, die im reifen Zustand grün, gelb oder schwarz sind, werden die Früchte rot im reifen und grün im unreifen, keimunfähigen Stadium geerntet.<sup>13</sup> Chilisorten, die grün gegessen werden können, sind z. B. *Jalapeño*, *Serrano*, *Anaheim* und *Gemüsepaprika*.<sup>2</sup>

Werden die Schoten frühzeitig, womöglich noch grün abgeerntet, begünstigt dies die Bildung und das Nachwachsen weiterer Früchte. Allerdings gewinnen die roten reifen Früchte fleischiger Sorten beim völligen Ausreifen an der Pflanze zwar weniger an Schärfe, dafür aber enorm an Süße und Carotinoiden, und schrumpeln nicht so leicht, ehe sie rot werden.<sup>2</sup>

Sollen die Früchte im reifen Zustand geerntet werden, muss berücksichtigt werden, dass dieser je nach Anbaugebiet und Sorte gegen Ende Juli beginnt und in der Regel bis Anfang Oktober andauert. Da keine zeitgleiche Reife der Beeren erfolgt, sind mehrere Pflückungen innerhalb mehrerer Wochen notwendig: z. B. ca. 6-8 Erntegänge im Abstand von jeweils 10-14 Tagen.<sup>11, 12, 18</sup>

Die Früchte werden häufig vorzeitig geerntet, wenn sie zu 85 % rot sind, und dann durch Lagerung einer Nachreife unterzogen. Die optimale Temperatur, um die geernteten Früchte zu lagern, beträgt 7,8-8,9 °C<sup>37</sup>, wobei, wie auch an der Pflanze, Seneszenzvorgänge ablaufen, die je nach Länge der Lagerzeit und der Lagerbedingungen den Pigmentgehalt verändern können. Oxidativ wirkende Enzyme wie Peroxidasen und Lipoxygenasen sind in der Nachreifephase besonders aktiv.<sup>38</sup>

Die relative Luftfeuchtigkeit muss über 90 % betragen, da die Früchte dazu neigen auszutrocknen. Die Früchte verlieren ihre Festigkeit bereits ab 2 % Wasserverlust und schrumpeln ab 6 % Wasserverlust.

Je nach beabsichtigter Verarbeitung werden die Früchte in einem unterschiedlichen Fruchtstadium geerntet.<sup>37</sup> Die meisten frisch als Gemüse zu verbrauchenden Chili-früchte werden physiologisch unreif geerntet, während die Hersteller von getrockneten und pürierten Produkten physiologisch reife Früchte benötigen. Auch Früchte die später eingelegt werden sollen, dürfen keinerlei rote Farbe aufweisen, da die Außenhaut von reifen Früchten an der Schote klebt und damit das spätere Häuten erschwert. Außerdem muss bedacht werden, dass Früchte, die über lange Strecken transportiert werden, insbesondere bei Temperaturen über 21 °C infolge von Atmung und Ethylen-Produktion noch nachreifen. Überreife Früchte können dann kaum noch am Zielort verkauft werden, da sowohl Farbstoffverluste auftreten, als auch die Stabilität durch die erhöhte Aktivität Polysaccharid-spaltender Enzyme, z. B.  $\beta$ -Galactosidase, Cellulase, Mannanase und Polygalacturanase, nachlässt.<sup>22, 39</sup>

Je nachdem, ob die Früchte frisch oder verarbeitet angeboten werden sollen, ist eine geeignete Nacherntebehandlung essentiell für die Produktqualität. Acht Verarbeitungsbereiche befassen sich mit der Verwendung von Chilis: Chilis werden frisch, in Dosen, gepökelt/eingelegt, tiefgefroren, fermentiert, getrocknet und als Oleoresine angeboten.<sup>13</sup>

## 1.7 Scharfstoffe

Die meisten Pflanzen aus der Familie der Solanaceae enthalten für Säugetiere toxische Mengen an Alkaloiden. Die Capsaicinoide als Alkaloide der *Capsicum*-Pflanzen sind in den natürlich vorkommenden Konzentrationen nicht toxisch, aber sie können im Mund oder Maul von Säugern nach dem Verzehr abschreckend brennend sein. Vögel, die die Scharfstoffe nicht wahrnehmen, werden von den leuchtend roten Früchten angelockt. Ihr Verdauungstrakt lässt die Samenschalen chemisch und physikalisch unversehrt, so dass die Samen weiterhin keimfähig bleiben und deshalb von Vögeln verbreitet werden.<sup>13</sup>

Die Schärfe wird durch ein Gemisch aus Vanillylamiden gesättigter und ungesättigter, geradkettiger oder methylverzweigter C<sub>8</sub>- bis C<sub>11</sub>-Fettsäuren verursacht, das einzigartig für das Genus *Capsicum* ist, so dass die Gruppe dieser Substanzen Capsaicinoide genannt wird. Sie sind geruchlos, farblos, geschmacks- und nährwertfrei.<sup>13, 40</sup>

Capsaicinoidgehalt und -zusammensetzung der verschiedenen Chilisorten sind sehr unterschiedlich, und damit ihre Schärfe und ihre sensorischen Eigenschaften (Geschmacksnote, Schärfedauer, Wirkort). Die bei uns als Rohkost und Gemüse verwendeten Paprika wurden gezielt capsaicinoidfrei gezüchtet. In anderen Chilisorten variieren die Capsaicinoidgehalte von 1-38 000 mg/kg.<sup>2</sup> Beispiele sind in Tabelle 1 aufgeführt.<sup>41</sup>

Sorte	Capsaicinoidgehalt [mg/kg Frischgewicht]	Bewertung
New Mexican NuMex Sweet <sup>42</sup> NuMex R'Naky <sup>43</sup>	2 20-60	mild mild
Padròn <sup>25, 26, 41, 44</sup>	6-100	mild – leicht scharf
Cascabel <sup>45</sup>	123	leicht scharf
Pasilla <sup>45</sup>	333	mäßig scharf
Cubanella <sup>45</sup>	1 091	scharf – sehr scharf
Jalapeño <sup>45</sup>	1 833	sehr scharf
Piquin <sup>46</sup>	4 834	sehr scharf
De árbol <sup>46</sup>	7 247	extrem scharf
Habanéro <sup>45</sup>	12 981	extrem scharf

**Tabelle 1: Maximale Capsaicinoidkonzentrationen in verschiedenen *Capsicum*-Sorten**

**1.7.1 Struktur und Capsaicinoidmuster**

Capsaicin und seine Analogen sind Vanillylamide von Fettsäuren, die sich in der Länge ihrer aliphatischen Kette, der An- oder Abwesenheit einer Doppelbindung, dem Ort der Methylverzweigung und ihrer relativen Schärfe unterscheiden.

Die drei Hauptcapsaicinoide Capsaicin (C), Dihydrocapsaicin (DC) und Nordihydrocapsaicin (NDC) machen zusammen meist über 95 % der Capsaicinoide aus.<sup>47-49</sup>

Von den natürlich vorkommenden Capsaicinoiden, die eine Doppelbindung aufweisen, wurden bisher nur trans-Isomere nachgewiesen.<sup>50-53</sup>

Die Strukturformeln der bisher bekannten Capsaicinoide sind in Abbildung 3 dargestellt.

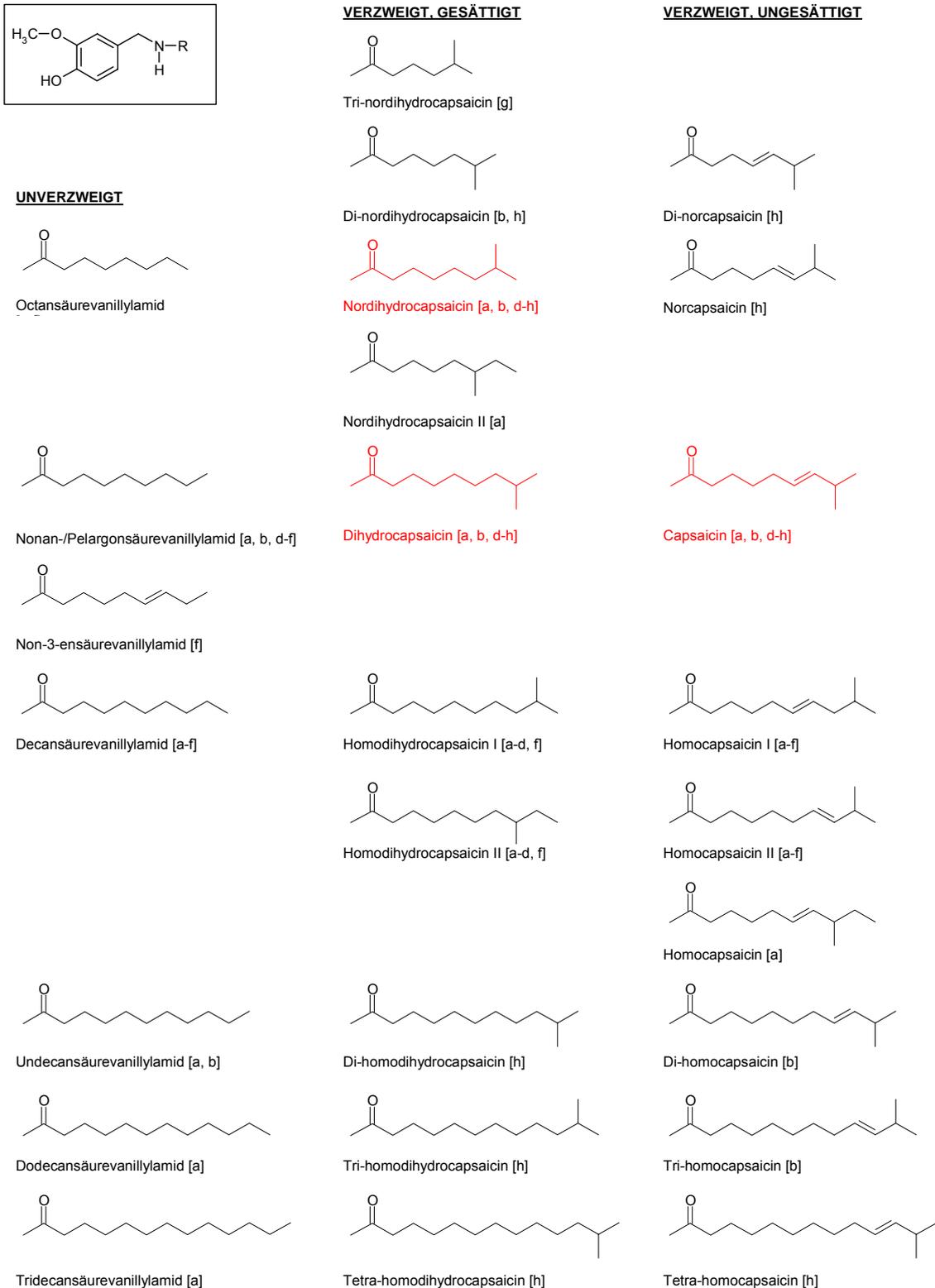


Abbildung 3: Die Strukturformeln der bisher bekannten Capsaicinoide

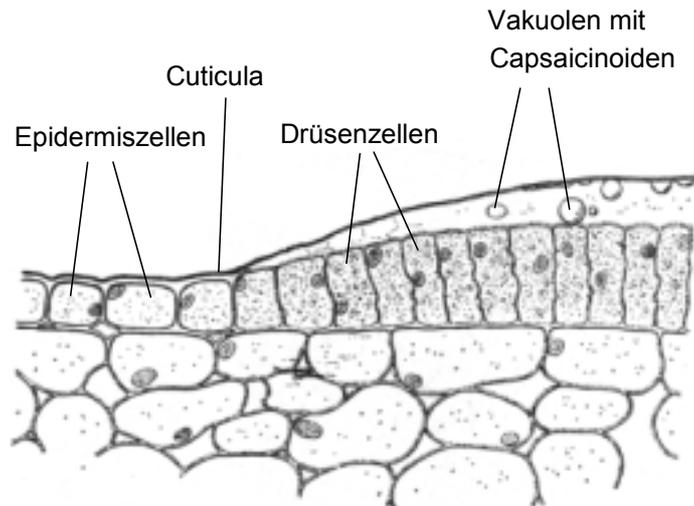
[a]<sup>5</sup>; [b]<sup>47</sup>; [c]<sup>50</sup>; [d]<sup>54</sup>; [e]<sup>55</sup>; [f]<sup>56</sup>; [g]<sup>13</sup>; [h]<sup>57</sup>

Die mengenmäßigen Anteile der Capsaicinoide sind je nach *Capsicum*-Art oder -Varietät verschieden. Die Anbaubedingungen (Gewächshaus oder Freiland) üben bei unterschiedlichen Gesamtschärfegehalten nur einen geringen Einfluss auf das Capsaicinoidmuster aus. *Jurenitsch et al.*<sup>58, 59</sup> überprüften anhand der Capsaicinoidmuster von vier Arten, ob die prozentuale Zusammensetzung neben dem Gesamtcapsaicinoidgehalt ein wichtiges Identifizierungsmerkmal darstellt. Aufgrund von Gemeinsamkeiten im Capsaicinoidmuster innerhalb einer Art und unter Zuhilfenahme der Blütenmorphologie wurde ein taxonomischer Bestimmungsschlüssel aufgestellt. *Kirschbaum*<sup>60</sup> fand in frischen Früchten gleicher Herkunft eine Übereinstimmung des Capsaicinoidmusters unabhängig von Fruchtalter und Fruchtfarbe. Neuere Ergebnisse von *Zewdie und Bosland*<sup>61</sup>, die die Capsaicinoidmuster von 191 Varietäten aus 6 Arten mittels linearer Diskriminanzanalyse untersucht haben, führten zur Aussage, dass sich das Capsaicinoidmuster nicht als chemotaxonomischer Indikator für eine Sortendifferenzierung eignet.

### 1.7.2 Lokalisation/Verteilung in Pflanze und Frucht

90-99 % der Capsaicinoide befinden sich in den Scheidewänden und der Plazenta<sup>60, 62-65</sup>, die wegen des nahtlosen Übergangs zwischen diesen Geweben schlecht getrennt voneinander aufgearbeitet und analysiert werden können und die im Grunde „zusammen gehören“.<sup>5</sup>

In den Drüsenzellen der Plazenta werden die Capsaicinoide synthetisiert.<sup>3</sup> Abbildung 4 zeigt, dass die etwas höheren dünnwandigen Drüsenzellen in Gruppen zwischen den Epidermiszellen eingestreut sind. Die über ihnen liegende Cuticula ist dadurch abgehoben, dass zwischen Drüsenzellen und Cuticula das gelbe, oft kristallin erstarrte Öl abgeschieden ist, welches die Capsaicinoide enthält.<sup>66</sup>



**Abbildung 4: Längsschnitt durch den Randteil der Paprika-Fruchtscheidewand mit epidermalen Capsaicinoid-Drüsen**<sup>66</sup>

Suzuki *et al.*<sup>65</sup> fanden durch mikroskopische Untersuchungen heraus, dass sich die Capsaicinoide im epidermalen Gewebe der Plazenta in kleinen Bläschen oder in den Vakuolen isoliert von anderen subzellulären Organellen anreichern. Sie vermuten, dass sie im Verlauf der Fruchtreife ab einer bestimmten Konzentration als Öl-Capsaicinoid-Mischung aus den Zellen abgesondert werden. Von der Plazenta aus verbreiten sich die Capsaicinoide während der Reife über alle Teile des Perikarps und in die Samen.<sup>5, 66, 67</sup>

### 1.7.3 Biosynthese

Die Biosynthese (Abbildung 5) der Capsaicinoide konnte mittels radioisotopenmarkierter Verbindungen weitgehend geklärt werden. Die Acylkomponente wird aus den von L-Valin, L-Leucin oder L-Isoleucin abgeleiteten  $\alpha$ -Ketosäuren und Acetateinheiten in einem mit der Fettsäuresynthese vergleichbaren Reaktionsverlauf gebildet.<sup>59, 68, 69</sup> Während L-Valin die Vorstufe für die geradzahligen Fettsäurekomponenten von C und DC bildet, liefert L-Leucin die Vorstufen der ungeradzahligen Fettsäurekomponenten von NDC, Homo-C I und Homo-DC I.<sup>70</sup> L-Isoleucin wird zur Bildung von Homo-C II und Homo-DC II benötigt.<sup>71</sup>

Das Kohlenstoffgerüst des Benzylaminteiles stammt aus L-Phenylalanin<sup>48, 68, 72</sup>, das über einen üblichen Synthesepfad, den Phenylpropanoidweg, über Zimtsäure, p-

Cumarsäure, Kaffeesäure, Ferulasäure und Vanillin zu Vanillylamin umgewandelt wird.

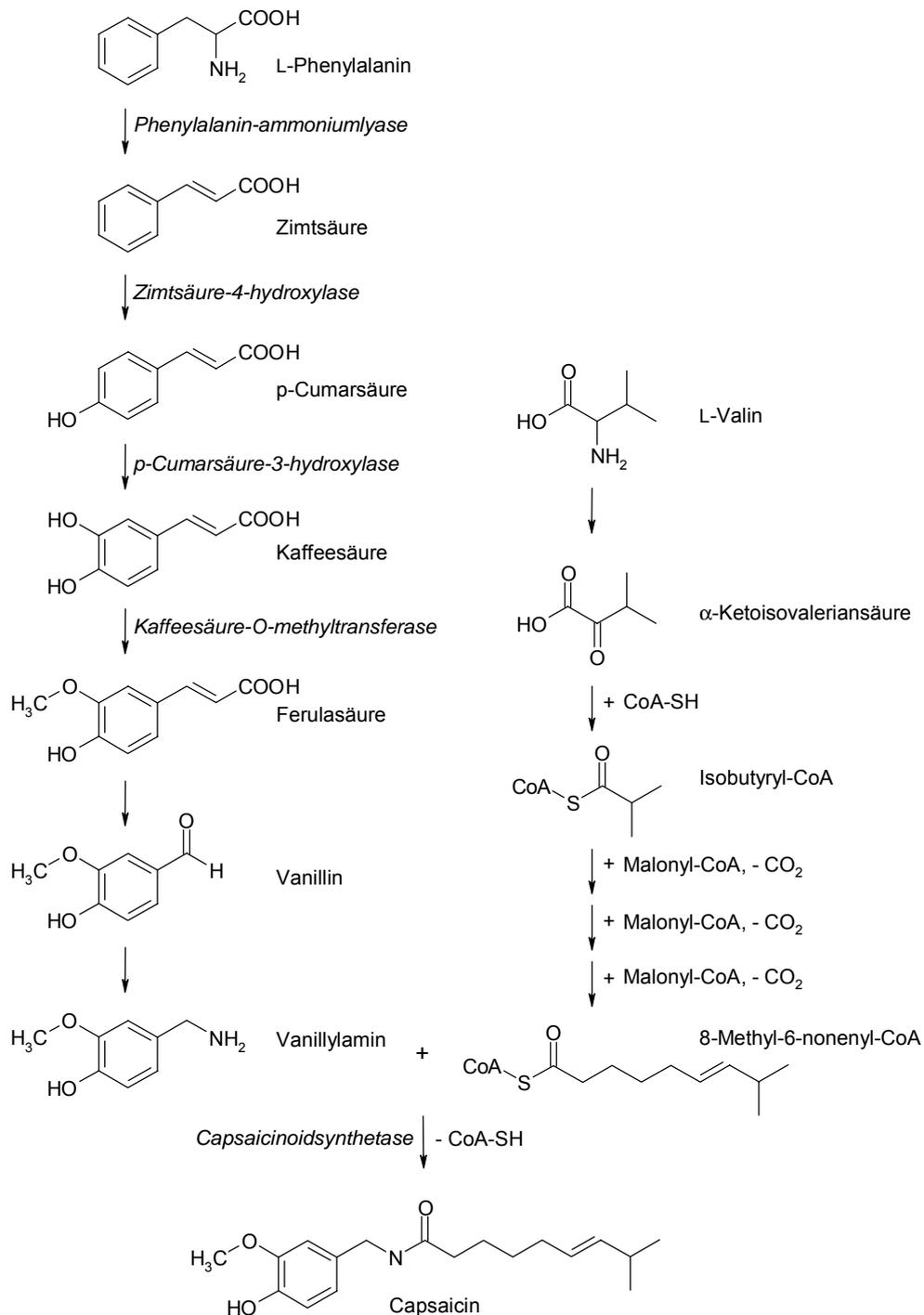


Abbildung 5: Biosyntheseweg von Capsaicin <sup>5</sup>

Die Enzyme der ersten vier Synthesestufen sowie das Capsaicinoid-synthetisierende Enzym sind bekannt: Phenylalanin-ammoniumlyase (PAL), Zimtsäure-4-hydroxylase (ZS-4-H), p-Cumarsäure-3-hydroxylase (CS-3-H), Kaffeesäure-O-methyltransferase

(KSOMT) und Capsaicinoid-Synthetase (CS). Die Enzyme, die die Umwandlung von Ferulasäure zu Vanillylamin über Vanillin katalysieren, sind unbekannt. Die Enzymaktivitäten von PAL, ZS-4-H, CS-3-H und KSOMT konnten von *Ochoa-Alejo und Gómez-Peralta*<sup>73</sup> bereits in den ersten 3-8 Tagen, die von CS ab dem 15. Tag nach der Blüte nachgewiesen werden. Die maximale Enzymaktivität bestand für alle fünf Enzyme in 30 Tage alten Früchten. *Holden et al.*<sup>74</sup> sowie *Hall und Yeoman*<sup>75</sup> konnten aber keinen Hinweis darauf finden, dass die PAL- und ZS-4-H-Aktivitäten die Capsaicinoidkonzentration beeinflussen, d.h. die Capsaicinoidsynthese regulieren. Die Aktivitäten der fünf Enzyme sind von *Fujiwake et al.*<sup>76</sup> in vitro in Plazenta-Protoplasten nachgewiesen worden. Die Intermediate und die Enzymaktivitäten wurden allerdings in unterschiedlichen Fraktionen des Protoplasten ermittelt. Während die PAL-Aktivität im Cytosol zu finden war, wurden die Aktivitäten der ZS-4-H und der CS in der Vakuole gemessen. Es wird vermutet, dass diese beiden Enzyme als membrangebundene Proteine mit dem Tonoplasten assoziiert vorliegen und sich aufgrund ihres pH-Optimums von  $\geq 7$  auf der dem Cytoplasma zugewandten Seite befinden. Nachdem die Capsaicinoid-Synthetase die Bindung von Vanillylamin und Fettsäure katalysiert hat, könnte das entstandene Capsaicinoid durch den Tonoplasten in die Vakuole eindringen und sich dort anreichern. *Dixon und Paiva*<sup>77</sup> berichten, dass sich viele Phenylpropanoide – häufig in Form von Konjugaten – in der Vakuole anreichern, indem die Reaktion, die zur Bildung dieser Konjugate führt, mit dem Transport in die Vakuole gekoppelt ist. Die hierbei wirksamen Enzyme sind möglicherweise mit dem Tonoplasten verbunden.

Die Capsaicinoide konnten, dieser Theorie entsprechend, zusammen mit p-Cumarsäure in der Vakuole nachgewiesen werden.<sup>78</sup>

*Fujiwake et al.*<sup>79</sup> haben außerdem in vitro die Spezifität des Capsaicinoid-synthetisierenden Enzyms hinsichtlich ausgewählter Fettsäuren, die in aktivierter Form als CoA-Derivate vorlagen, untersucht. Als Substrat wurden methylverzweigte gesättigte Fettsäuren mit einer Kettenlänge von *iso-C*<sub>9:0</sub> bis *iso-C*<sub>11:0</sub> sowie die ungesättigte Fettsäure *iso-C*<sub>10:1</sub> akzeptiert, jedoch nicht Fettsäuren mit einer geringeren oder höheren Kettenlänge sowie die geradkettige Fettsäure *n-C*<sub>10:0</sub>. Bei gleichzeitiger Zugabe von *iso-C*<sub>9:0</sub>, *iso-C*<sub>10:0</sub>, *iso-C*<sub>10:1</sub> und *iso-C*<sub>11:0</sub> wurde NDC mit 68 % als Hauptcapsaicinoid synthetisiert, gefolgt von DC (12 %), C (10 %) und Homo-DC (10 %). Da dieses Ergebnis nicht mit dem natürlich vorkommenden

Verteilungsmuster übereinstimmt, müssen neben der Enzymspezifität auch andere Faktoren über das Capsaicinoidmuster entscheiden.

*Kim et al.*<sup>80</sup> erreichten bei einer *C. annuum*-Varietät mit hohem Capsaicin- aber wesentlich geringerem Dihydrocapsaicin-gehalt durch die Zugabe von *iso-C*<sub>10:0</sub> sehr hohe Dihydrocapsaicin-gehalte und halten die Verfügbarkeit der Fettsäuren für das Capsaicinoidmuster verantwortlich.

Laut *Suzuki et al.*<sup>81</sup> könnte die Zusammensetzung des Aminosäurepools maßgebend sein, da drei- bis fünfmal mehr L-Valin, die Vorstufe für C und DC, als L-Leucin, die Vorstufe für NDC, in der Plazenta ermittelt wurde.

Allerdings konnten *Kehayoglou und Manoussopoulos*<sup>82</sup>, als sie Aminosäurekonzentration und -muster von milden mit scharfen Gewürzpaprikafrüchten verglichen, keinen Unterschied beobachten. Die Konzentrationen der für die Capsaicinoid-synthese relevanten Aminosäuren waren in der scharfen Sorte nicht höher, so dass eine Regulierung der Capsaicinoidbildung über den Aminosäurepool fraglich ist.

Die Capsaicinoidzusammensetzung ist während der Stadien bis zur Fruchtreife konstant<sup>25, 26, 41, 64, 83</sup>, so dass dies für eine parallele Bildung der Scharfstoffe in jeweils konstanten Mengenverhältnissen spricht. Da eine gegenseitige Umwandlung der Hauptcapsaicinoide ausgeschlossen werden kann, findet die Ausbildung der Doppelbindung oder Hydrierung des Säureteiles der Capsaicinoide vor der Verknüpfung der Säuren mit dem Vanillylamin und nicht vor oder nach der Sezernierung der Scharfstoffe in die Subkutikularräume der Fruchtscheidewände statt.

#### 1.7.4 Capsaicinoidgehalte während der Fruchtentwicklung und –reife

Der Schärfegrad wird laut *Iwai et al.*<sup>5</sup> vom Genom und den Umweltbedingungen beeinflusst. So spielen nicht nur Varietät, Alter und Ernährungsstatus der Pflanze, sondern auch Klima, Temperatur, Licht, geographische Lage, Bodenfeuchtigkeit, Düngung und Anbauart eine wichtige Rolle.

Viele Studien berichten über die Anreicherung von Capsaicinoiden in *Capsicum*-Früchten im Verhältnis zum Alter, zur Größe und zum Entwicklungsstatus der Frucht. In Tabelle 2 sind diese Arbeiten aufsteigend nach dem Publikationsjahr aufgeführt.

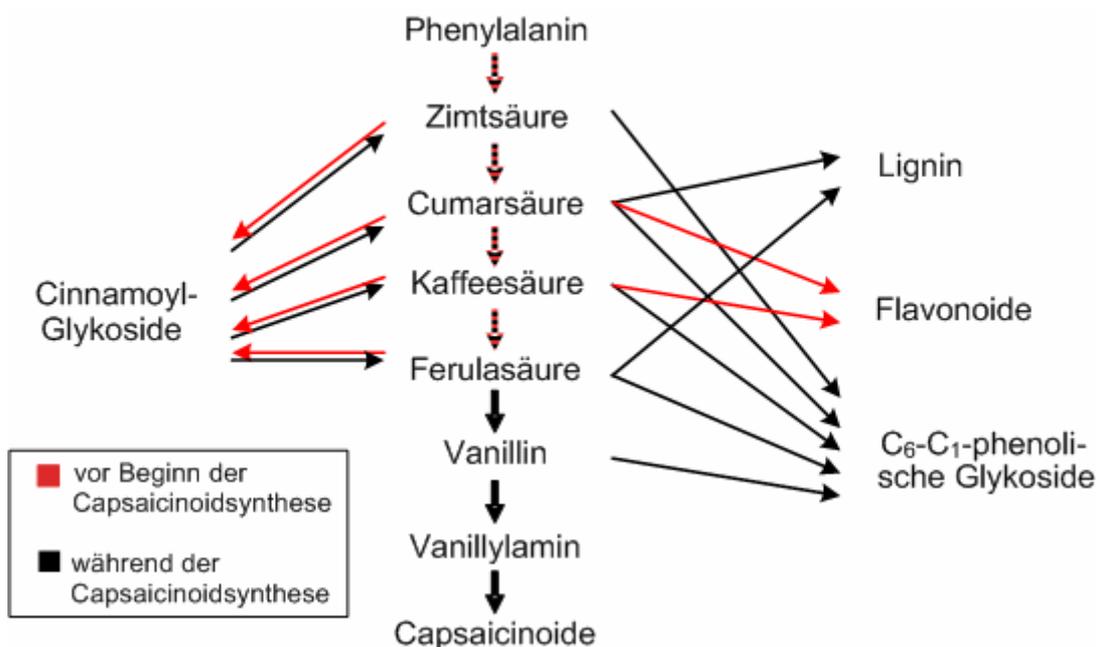
<b>Autor (Publikationsjahr)</b> <b>(Art)</b>	<b>Capsaicinoide</b>		
	<b>Bildung und Anreicherung</b>	<b>Konzentrationsmaximum</b>	<b>Konzentrationsabnahme</b>
<i>Schratz und Rangoonwala</i> (1966) <sup>84</sup> ( <i>C. annuum</i> )	(keine Angabe)	im reifen grünen Zustand	nein
<i>Iwai, Suzuki und Fujiwake</i> (1979) <sup>64</sup> ( <i>C. annuum</i> )	ab 20. Tag	40. Tag	ab 50. Tag starke Abnahme
<i>Hall, Holden und Yeoman</i> (1987) <sup>85</sup> <i>Hall und Yeoman</i> (1991) <sup>75</sup> <i>Sukrasno und Yeoman</i> (1993) <sup>67</sup> ( <i>C. frutescens</i> )	ab 20.-25. Tag ; wenn die Frucht ihr Längenwachstum einstellt	40. Tag	nein
<i>Contreras-Padilla und Yahia</i> (1989) <sup>46</sup> ( <i>C. annuum</i> ) ( <i>C. chinense</i> )	< 10. Tag ab 10.-20. Tag	40.-50. Tag 50. Tag	ab 40.-50. Tag starke Abnahme auf eine Konz., die der vom 10.-20. Tag entspricht; <i>C. chinense</i> nicht so stark
<i>Salgado-Garciglia und Ochoa-Alejo</i> (1990) <sup>86</sup> ( <i>C. annuum</i> )	ab 10. Tag	50. Tag	ab 50.-60. Tag auf eine Konz., die der vom 10.-20. Tag entspricht; danach konstant
<i>Sakamoto et al.</i> (1994) <sup>87</sup> ( <i>C. annuum</i> )	ab 3.-4. Woche	ca. 12. Woche	nein
<i>Estrada, Pomar, Díaz, Merino, Bernal</i> (1997/98) <sup>25, 26</sup> <i>Estrada, Bernal, Díaz, Pomar und Merino</i> (2000) <sup>88</sup> ( <i>C. annuum</i> )	ab 10.-20. Tag	Anstieg bis zum letzten Messtag, dem 30.-40. Tag	(nicht untersucht)
<i>Kim, Varindra, Cho, Kim und Lee</i> (2000) <sup>80</sup> ( <i>C. annuum</i> , mild)	ab 12. Tag	Anstieg bis zum letzten Messtag, dem 58. Tag	(nicht untersucht)
<i>Kim, Varindra, Cho, Kim und Lee</i> (2000) <sup>80</sup> ( <i>C. annuum</i> , scharf)	ab 12. Tag	36. Tag	geringe Abnahme vom 36.-48. Tag; dann konstant nach Heranreifen der Früchte und deren Farbwechsel
<i>Park, Park, Yoo und Jeong</i> (2001) <sup>89</sup>	(keine Angabe)	im Stadium beginnender Röte	(keine Angabe)

**Tabelle 2: Anreicherung von Capsaicinoiden in *Capsicum*-Früchten**

Kim et al.<sup>80</sup> teilten die Früchte in Samen, Perikarp und Plazenta, um jeweils die Aktivität der Capsaicinoidsynthetase und die Konzentration der Capsaicinoide in Abhängigkeit vom Fruchtalter zu betrachten, und fanden beides überwiegend in der Plazenta. Die Enzymaktivität erreichte ihr Maximum bereits 24 Tage nach der Blüte, während die Scharfstoffkonzentration kontinuierlich weiter anstieg.

Alle Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Anreicherung der Capsaicinoide im frühen Entwicklungsstadium der Frucht einsetzt und solange ansteigt, bis die Frucht ihre maximale Länge erreicht hat. Wie sehr die Scharfstoffkonzentration steigt und eventuell wieder sinkt, hängt von den unterschiedlichen Kultivaren ab.<sup>90</sup>

Eine Konkurrenz zwischen dem Einbau ligninartiger Verbindungen in die Zellwände, der Bildung weiterer Pflanzenphenole und der Capsaicinoidbiosynthese würde nicht überraschen, da Capsaicinoide über einen Syntheseweg produziert werden, der vielen Vorstufen und Zwischenprodukten für andere Biomoleküle wie z. B. Proteine, Lignin, Anthocyane, Cumarine und Flavonoide gemeinsam ist.<sup>67, 85</sup> Lediglich die Konkurrenz mit den Proteinen um das Phenylalanin ist laut Hall and Yeoman<sup>75</sup> unwesentlich. Abbildung 6 fasst die von Sukrasno und Yeoman<sup>67</sup> vermuteten biosynthetischen Zusammenhänge zwischen den vielfältigen Phenylpropanoiden und den Capsaicinoiden zusammen.



**Abbildung 6: Biosynthetische Zusammenhänge zwischen den Phenylpropanoiden<sup>67</sup>**

Um zu überprüfen, ob die Verfügbarkeit der Phenylpropanoide die Capsaicinoidsynthese reguliert, wurde die Konzentration der freien Phenole in den einzelnen Entwicklungsstadien parallel zum Schärfegehalt bestimmt. *Sukrasno und Yeoman*<sup>67</sup> konnten in *C. frutescens* zwar keine freien Phenole, aber deren Glykoside messen. Sie vermuten, dass diese nach Translokation aus den Samen, in denen sie früher als in der Plazenta angereichert werden, als Speichersubstanzen für die Capsaicinoidsynthese in der Plazenta dienen, da ihre Konzentration parallel zur Bildung der Capsaicinoide und der ligninartigen Substanzen abnimmt.

Die Arbeitsgruppe um *Ishikawa*<sup>62</sup> und *Sakamoto*<sup>87</sup>, die die Bildung und Anreicherung der freien Phenole und des Vanillylamin parallel zur Capsaicinoidkonzentration überprüfte, konnten freie Phenole sowohl in einer scharfen als auch in einer milden Sorte von *C. annuum* messen. Die Akkumulation erfolgte im gleichen Zeitraum wie die der Capsaicinoide. Die Konzentration der freien Phenole in der Plazenta betrug nur  $\frac{1}{15}$  der Capsaicinoidkonzentration. Ein regulierender oder limitierender Einfluss dieser freien Phenole auf die Capsaicinoidsynthese wird nicht angenommen, da keine Akkumulation vor der Capsaicinoidbildung beobachtet wurde.

Umweltbedingungen, die das Pflanzenwachstum begünstigen, führen dazu, dass viele sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe wie Lignin und die Capsaicinoide in geringerem Ausmaß synthetisiert werden, weil der Kohlenstoff primär für die Wachstumsprozesse benötigt wird.<sup>91</sup>

### 1.7.5 Ökologische Einflüsse

Züchter können selektiv Kultivare mit unterschiedlichen Schärfegraden entwickeln oder die Schärfe durch das Stressausmaß, dem sie die Pflanzen aussetzen, kontrollieren. Die Früchte sind schärfer, nachdem sie anstrengende Wachstumsbedingungen überstanden haben. Jeglicher Stress für die Pflanzen kann den Schärfegehalt der Früchte anheben, so dass einige heiße Tage den Capsaicinoidgehalt – selbst bei ausreichender Bewässerung – signifikant erhöhen können.<sup>6, 44, 84, 92, 93</sup>

*Jurenitsch et al.*<sup>58</sup> ermittelten Unterschiede im Capsaicinoidgehalt innerhalb eines Kultivars, wenn dieses im Gewächshaus oder auf dem Feld angepflanzt wird. Dieses

Ergebnis unterstreicht den Einfluss der Umweltbedingungen auf den Scharfstoffgehalt.

*Balbaa et al.*<sup>94</sup> säten auf dem Feld Pflanzen so aus, dass sie entweder im Sommer oder im Herbst 1967 Früchte trugen, und ermittelten, dass die Scharfstoffsynthese in den Früchten bei sommerlich hohen Temperaturen früher einsetzt, der Schärfegrad aber nicht beeinflusst wird. *Estrada et al.*<sup>95</sup> bestätigten die erste Beobachtung in einem ähnlichen, aber im Gewächshaus durchgeführten Experiment während des Sommers und Herbstes 1997. Sie stellten aber im Gegensatz zu *Balbaa et al.* fest, dass der Zeitpunkt der Aussaat den Schärfegrad der Früchte beeinflusst, indem Früchte mit einer Reifezeit während des Sommers mehr Capsaicinoide enthielten.

*Lindsey und Bosland*<sup>43</sup> sowie *Harvell und Bosland*<sup>96</sup> überprüften den Einfluss der Umweltbedingungen auf den Schärfegehalt der Früchte der milden Sorte „New Mexiko“ (*C. annuum*). Innerhalb eines Feldes wurden auf fünf Parzellen à 1 m x 9 m 24 Pflanzen angebaut. Von jeweils einer Parzelle wurden zufällig drei Pflanzen ausgewählt, deren reife Früchte pro Pflanze jeweils zusammen aufgearbeitet und hinsichtlich ihres Scharfstoffgehaltes (Angabe in SHU) untersucht wurden. Innerhalb einer Parzelle herrschten zwischen den drei Pflanzen in allen fünf Fällen starke Schwankungen von 20-40 % oberhalb und 15-30 % unterhalb der berechneten Mittelwerte. Im Vergleich der fünf Mittelwerte ergab sich ebenfalls eine Schwankungsbreite von +39 % bis -27 % des berechneten Mittelwertes, der bezogen auf die Scharfstoffgehalte der 15 Pflanzen eine Schwankungsbreite von +78 % bis -46 % aufwies. Diese Ergebnisse demonstrieren den größeren Einfluss der Umweltbedingungen auf die Schärfe als den des Genotyps.

Wie schwierig es für Züchter und Produzenten ist, stets gleich scharfe Früchte anzubieten, zeigten *Zewdie und Bosland*<sup>97</sup> auf, indem sie sechs gezüchtete Genotypen hinsichtlich der Genotyp-Umwelt-Wechselwirkungen untersuchten und lediglich einen Genotyp als stabil gegenüber Umwelteinflüssen herausstellen konnten.

## 1.7.6 Stabilität der Capsaicinoide

### 1.7.6.1 Stabilität während der Fruchtentwicklung

Die Aussagen zur Abnahme von Scharfstoffen beim Reifen und Altern von *Capsicum*-Früchten vermitteln ein uneinheitliches Bild (Tabelle 2, Seite 21). *Iwai et al.*<sup>64</sup> hatten bei alten Früchten niedrige Capsaicinoidgehalte beobachtet und führten dies auf einen enzymatischen und/oder chemischen Abbau zurück, den sie noch nicht abschließend untersucht hatten.

Große Bedeutung wird hierbei den Peroxidasen zugesprochen. Peroxidasen in Pflanzen werden in Zusammenhang mit Polymerisation von Phenolen, Lignifizierung, Verkorkung, Wundheilung, Schutz gegenüber Wasserstoffperoxid und anderen Oxidantien, Toleranz gegenüber Trockenheit, Chlorophyllabbau und Alterung sowie Resistenz gegenüber Krankheiten gebracht.

Peroxidasen sind Glykoproteine, die entsprechend ihres pI-Wertes in zwei Gruppen eingeordnet werden können: sauer und basisch. Eine bestimmte Frucht kann verschiedene Isoenzyme mit unterschiedlichen isoelektrischen Punkten besitzen. In den einzelnen Reifestadien einer Frucht kann die Art und/oder die Konzentration der Isoenzyme variieren.

Auf der Suche nach dem Grund dafür, warum der Capsaicinoidgehalt bei einem Fruchtalter von 40-50 Tagen geringer ist, konnten *Bernal et al.*<sup>98, 99</sup> in vitro nachweisen, dass ein Rohextrakt aus *Capsicum annum*-Früchten ebenso wie Meerrettichperoxidase bei obligatorischer Anwesenheit von Wasserstoffperoxid Capsaicin und Dihydrocapsaicin umsetzt, indem der Vanillylrest oxidiert wird. Um zu überprüfen, ob der Capsaicinoidabbau in Früchten auf Peroxidasen zurückzuführen ist, wurde deren basisches Isoenzym B<sub>6</sub> mittels Acetonfällung aufgereinigt, da insbesondere dieses wie die Capsaicinoide in der Vakuole vorkommt. Capsaicin sowie die biosynthetischen Vorstufen, mit Ausnahme von Vanillylamin, wurden durch das Isoenzym B<sub>6</sub> abgebaut.<sup>100, 101</sup>

Durch histochemische Untersuchungen konnten die Peroxidasen der Frucht in der Plazenta und den äußersten Epidermiszellschichten nachgewiesen werden.<sup>102</sup> Da das basische Peroxidase-Isoenzym B<sub>6</sub> auch in den Zellwänden lokalisiert ist, ist es möglicherweise an der Lignifizierung der Phenylpropanoide für den Zellwandaufbau beteiligt. Dementsprechend wurden als Oxidationsprodukte des Capsaicins das

Dimer (5,5'-Dicapsaicin), ein Ether (4'-O-5-Dicapsaicinether) und dehydrierte Polymere ligninartiger Struktur ermittelt.<sup>103</sup>

Auch eine saure Isoperoxidase setzt Capsaicin um.<sup>104</sup> Sie weist zwar eine höhere Aktivität als die basische Isoperoxidase, aber nur eine sehr geringe Konzentration in der Plazenta auf. Die Aktivität der sauren Isoperoxidase nimmt im Verlauf von 14-42 Tagen nach der Blüte zu, während die der basischen Isoperoxidase abnimmt. Das saure Isoenzym ist räumlich von den Capsaicinoiden getrennt und könnte erst an deren Abbau teilnehmen, wenn die Zellkompartimentierung mit fortschreitender Reife und dem Weichwerden der Früchte aufgehoben wird.<sup>88</sup>

Alle Untersuchungen durch die Arbeitsgruppe von *Bernal* wurden stets in vitro mit zugefügtem Capsaicin durchgeführt. Als Proteinquelle wurde ein nicht weiter differenziertes Produkt der Acetonfällung eingesetzt.

*Contreras-Padilla und Yahia*<sup>46</sup> untersuchten bei Früchten von *C. chinense* und *C. annuum* (zwei Varietäten) ebenfalls den Zusammenhang zwischen Capsaicinoidgehalt und Peroxidaseaktivität in den verschiedenen Entwicklungsstufen von unreif, grün bis zu reif, rot (10-80 Tage Fruchtalter). Die Früchte wurden halbiert. Die eine Hälfte diente der Scharfstoffmessung, die andere der Bestimmung der Peroxidaseaktivität mit Capsaicin als Substrat. Weitere Details zur Probenvorbereitung fehlen. Höchstwahrscheinlich wurden keine Einzelfrüchte untersucht, sondern Gemische aus mehreren Früchten weiter aufgearbeitet. Die Capsaicinoidkonzentration nahm kontinuierlich zu, erreichte nach 40-50 Tagen Fruchtalter das Maximum und nahm dann ab. Hinsichtlich der Peroxidaseaktivität wurde ein entgegengesetzter Zusammenhang beobachtet, da diese zu dem Zeitpunkt ansteigt, wenn die Capsaicinoidkonzentration zu sinken beginnt.

*Biles et al.*<sup>105</sup> bestätigen, dass der Expressionsgrad an Peroxidasen dem Reifegrad, der Verdickung der Cuticula und der erhöhten Widerstandsfähigkeit entspricht. Durch eine histochemische Untersuchung (tissue blotting) wurden Peroxidasen insbesondere in der Fruchtschale (Exokarp) lokalisiert.<sup>106</sup> In jeder Altersstufe konnten nur saure Peroxidasen nachgewiesen werden, die im zeitlichen Verlauf zunehmen. Es bleibt unklar, welche Peroxidasen für die Lignifizierung verantwortlich sind, da diese möglicherweise nicht vollständig durch tissue blotting nachgewiesen werden können und somit eventuell noch weitere Isoenzyme existieren.

*Tevini*<sup>38</sup> unternahm Untersuchungen zur Lokalisierung der Peroxidase und ermittelte die spezifischen Aktivitäten in ganzen Früchten sowie in den getrennten Fruchtkompartimenten (1. Kelch mit Stengel, 2. Samen und 3. Perikarp). Verglichen mit ganzen Früchten existierte in den Kelchen mit Stengeln eine viermal höhere, im Perikarp eine leicht geringere und im Samen eine viermal geringere Peroxidaseaktivität.

*Krajayklang et al.*<sup>107</sup> haben beobachtet, dass sich der Schärfegehalt im Verlauf der Reifestadien von grün (reif) nach tief-rot nicht ändert und die Capsaicinoide demnach nicht abgebaut werden.

### 1.7.6.2 Stabilität während Verarbeitung und Lagerung

Untersuchungen durch *Kirschbaum et al.*<sup>108</sup> sprechen dafür, dass die Capsaicinoide in intakten Früchten stabil sind. Ein Capsaicinoidabbau wird erst durch die Zerkleinerung der Früchte ausgelöst und hängt von den Lagerungsbedingungen ab; niedrige Temperaturen und schnelle Trocknungsverluste verhindern den Capsaicinoidabbau. Aufgrund dieser Beobachtungen wurde die Beteiligung von Enzymen am Abbau vermutet. Enzyme, die Capsaicinoide als Substrat nutzen, können nach in vitro-Versuchen von *Bernal et al.* Peroxidasen sein.<sup>98-101</sup> Da sowohl *Estrada et al.*<sup>88</sup> als auch *Contreras-Padilla und Yahia*<sup>46</sup> feststellten, dass die Peroxidaseaktivität während der unterschiedlichen Fruchtalterstufen variiert, könnte dies die Erklärung dafür liefern, dass bei vergleichbaren Lagerbedingungen ein unterschiedlich großer prozentualer Abbau beobachtet wurde.

Die weitere Verarbeitung zu getrockneten Produkten oder zu Extrakten hat keinen einheitlichen, einfach zu beschreibenden Einfluss auf die Stabilität der Capsaicinoide.

Capsaicinoide werden weder durch das Erhitzen beim Kochen noch durch Einfrieren zerstört.<sup>2</sup> Erst ab Temperaturen von 200 °C für einen Zeitraum von zwei Stunden konnten *Henderson und Henderson*<sup>109</sup> eine Spaltung vor allem in die Produkte 8-Methyl-6-nonenamid, Vanillin, 8-Methyl-6-nonensäure, 2-Methoxy-4-methylphenol, Nonansäure, Nonanamid und Methylvanillin messen.

In Oleoresinen sind die Scharfstoffe sehr stabil und zerfallen üblicherweise sogar während der Verarbeitung bei hohen Temperaturen sowie langen Lagerungszeiten nicht.

In getrockneten Produkten (Früchte, Pulver) sind die Capsaicinoide nicht so stabil wie in den Oleoresinen.<sup>40</sup> *Lease und Lease*<sup>110</sup> konnten beobachten, dass die Temperatur während der Trocknung der Früchte den Schärfegehalt beeinflusst. Früchte, die bei 65 °C getrocknet wurden, waren schärfer als bei 49 °C oder 80 °C getrocknete. Weiterhin führt auch die Dauer der Trocknung zu Verlusten bis zu 50 %.<sup>40</sup> *Mangaraj et al.*<sup>111</sup> haben die künstliche Trocknung (45 °C in Lattenkisten) der herkömmlichen Trocknung und einer Sontrocknung in einem Gewächshaus mit Belüftung sowie in einer Kammer mit natürlicher Umluft gegenüber gestellt. Die Qualität der künstlich getrockneten Früchte wurde höher eingestuft, da der Schärfegehalt am höchsten war.

Nachdem die Früchte getrocknet wurden, ist selbst bei einer Lagerung unter kalten Bedingungen (-16 °C) mit monatlichen Verlusten von 1-2 % zu rechnen. Die Scharfstoffgehalte sinken bei Pulvern bis zu 5 %, abhängig von der Mahlfeinheit und der Lagerungstemperatur.<sup>40</sup>

Der Scharfstoffgehalt von thermisch behandeltem (85 °C für 15 min) Chilipüree sinkt ebenfalls nach *Ahmed et al.*<sup>112</sup> um 19 % von 559 mg/kg auf 441 mg/kg.

Weitere Verarbeitungsverfahren wie Kochen, Tiefgefrieren und Einlegen von blanchierten Früchten wurden durch *Harrison und Harris*<sup>113</sup> mit „Jalapeño“-Früchten untersucht. Sie verglichen die Capsaicinoidgehalte nach der Behandlung mit denen von frischen Früchten und beobachteten höhere Gehalte nach dem Kochen und niedrigere Gehalte nach dem Einlegen. Durch das Kochen (100 °C für 10 min) können die Capsaicinoid-abbauenden Enzyme inaktiviert werden. Beim Einlegen muss beachtet werden, dass die Früchte durch die Lake aus Essigsäure, Öl und Kochsalz ausgelaugt werden. *Lee und Howard*<sup>114</sup> berichten, dass das Einlegen und Pasteurisieren der Früchte sowie der Zusatz von CaCl<sub>2</sub>, um die Erweichung während der Verarbeitung und Lagerung herab zu setzen, den Schärfegehalt weder positiv noch negativ beeinflussen. Im viermonatigen Verlauf der Lagerung auftretende Verluste von 10-30 % werden ebenfalls auf das Auslaugen zurückgeführt.

### 1.7.7 Physiologische Eigenschaften

Der Pharma-Wissenschaftler *Wilbur L. Scoville* entwickelte 1912 das erste Messverfahren, um für medizinische Präparate eine möglichst präzise Capsaicindosierung zu

ermöglichen.<sup>2</sup> Da Capsaicinoide noch in verdünnten Lösungen von 1:16 000 000 wahrgenommen werden können<sup>59</sup>, basiert diese Methode auf der Messung, in wie starker wässriger Verdünnung die Schärfe des zu untersuchenden Gewürzpaprika noch spürbar ist. Das Messergebnis wird in den nach ihrem Erfinder benannten Scoville-Einheiten angegeben. Die sogenannte „heat-scale“ oder „Scoville-Skala“ für den Schärfeegrad der diversen Paprikasorten reicht von null für Gemüsepaprika bis zu 300 000 für Habaneros.<sup>2</sup>

Essentiell für den Schärfeeindruck der Vanillylgruppe ist die Anwesenheit einer nicht-methyl-substituierten neben der methyl-substituierten Phenolgruppe.<sup>115</sup> Um den Zusammenhang zwischen Schärfeegrad und Fettsäurerest zu untersuchen, verknüpfte *Nelson* geradkettige Fettsäuren mit Vanillylamin. Erst ab einer Kettenlänge mit sechs Kohlenstoffatomen tritt Schärfe auf, die schrittweise mit der Kettenlänge von 7-12 Kohlenstoffatomen ansteigt, dann aber mit weiterer Kettenverlängerung wieder abnimmt. Das Schärfemaximum besteht bei einer Kettenlänge von neun Kohlenstoffatomen. Die An- oder Abwesenheit einer Doppelbindung übt keinen Einfluss auf den Schärfeeindruck aus.<sup>116</sup>

Die beiden Hauptcapsaicinoide Capsaicin und Dihydrocapsaicin erwecken nahezu einen gleich starken Schärfeeindruck, während die Analogen 30-70 % der Schärfintensität erzeugen.<sup>117</sup> *Jurenitsch*<sup>59</sup> ermittelte mit vier Versuchspersonen die „Scharfwerte“, d.h. die reziproken Werte der Verdünnungen, bei denen die Lösungen der Einzelcapsaicinoide gerade schon scharf empfunden wurden. Capsaicin weist demnach mit 17 Mio. den höchsten Scharfwert auf, gefolgt von Homocapsaicin I + II (13 Mio.), Dihydrocapsaicin (11 Mio.), Nordihydrocapsaicin (10 Mio.), Decyl- und Nonylsäurevanillylamid (9 Mio.), Homodihydrocapsaicin I + II (8 Mio.) und Caprylsäurevanillylamid (7 Mio.).

Beim Verzehr wird nicht nur die Schärfintensität, sondern auch jedes Capsaicinoid unterschiedlich wahrgenommen. Die verschiedenen Capsaicinoidmuster entwickeln den individuellen Schärfekarakter der Chilisorten.<sup>118</sup> Die Schärfintensität hängt nicht nur linear von der Capsaicinoidkonzentration ab<sup>59, 118</sup>, sondern wird auch von den weiteren Lebensmittelinhaltsstoffen beeinflusst. So wirkt eine scharfe Käsesoße bei einem niedrigen Fettgehalt (3 %) schärfer als bei einem hohen Fettgehalt (21 %), obwohl die gleiche Capsaicinkonzentration (0,4-1,6 mg/kg) enthalten ist.<sup>119</sup> Umgekehrt kann Capsaicin in Konzentrationen von 4-16 mg/kg den Süßgeschmack eines Lebensmittels unterdrücken.<sup>120</sup>

Die Wärmewahrnehmung nach Verzehr capsaicinoidhaltiger Lebensmittel resultiert aus einer Reizung von in Mund, Nase und Magen lokalisierten Schmerzrezeptoren, die zum trigeminalen Nervensystem gehören. Unter anderem wird durch Capsaicin ein Neurotransmitter, die Substanz P, ausgeschüttet.<sup>121</sup> Die Substanz P (SP) ist ein aus elf Aminosäuren bestehendes Peptid, das zur Gruppe der Neurokinine gehört, und bindet an spezifische Rezeptoren, die Neurokinin-Rezeptoren.<sup>122</sup> Substanz P bewirkt eine starke Erweiterung der Blutgefäße und steigert die Durchlässigkeit der Gefäßwände. Als Folge davon wird die örtliche Durchblutung des Gewebes erhöht. Diese Vorgänge bewirken wiederum eine Steigerung der Empfindsamkeit des Schmerzrezeptors.<sup>123</sup> Die Substanz P signalisiert dem Gehirn über das Zentrale Nervensystem den Schmerz sowie die Ausschüttung von Endorphinen an den Nervenenden, um dem Schmerz auf natürliche Weise entgegenzuwirken.<sup>13</sup> Wiederholter Chilikonsum führt zu einer Adaptation dieser Schmerzrezeption<sup>124</sup>, was der Grund dafür ist, dass regelmäßige Konsumenten eine hohe Toleranz gegenüber Capsaicinoiden aufbauen und schärfere Speisen als Chili-Ungewohnte essen können.<sup>3</sup>

Durch die Ausschüttung von Endorphinen wird der Kreislauf angeregt und dadurch das Wohlbefinden gesteigert. Nach der Aufnahme wird das Herzschlagvolumen erhöht, die Speichelmenge vermehrt, wodurch Karies auslösende Säuren neutralisiert werden, die Fermentaktivität des Speichels gesteigert und so die Verdauung unterstützt. In heißen Ländern sorgt ihre schweißtreibende Wirkung dafür, dass der Körper nicht überhitzt.<sup>18, 40, 125</sup>

Lebensmittel, die Capsaicinoide enthalten, erhöhen die Metabolismusrate des Körpers nach dem Verzehr. So konnte bei Kaninchen beobachtet werden, dass bei Verabreichung von Dihydrocapsaicin zu einer Cholesterin-angereicherten Diät ein Schutz vor Hyperlipidämie bestand, was auf einen erhöhten Lipidtransport zurückgeführt wird.<sup>117</sup>

Nicht nur in der Ernährung sondern auch in der Medizin spielt Capsaicin eine wichtige Rolle. Die pharmazeutische Industrie nutzt Capsaicin in Cremes zur äußeren Anwendung (0,025-0,075 %) <sup>126, 127</sup>; es ist die aktive Komponente in Pflastern für schmerzende Muskeln. Capsaicin eignet sich auch bei chronischen Schmerzen, wie z. B. im Fall von Gürtelrose, in dem es auf der Haut für mehrere Wochen angewendet wird. Die Verwendung von Capsaicinoiden bei der Schmerzbehandlung setzt an

zwei Punkten an: die Wärmeentwicklung, die in Muskeln und arthritischen Gelenken als angenehm empfunden wird, und die Verminderung der Substanz P aufgrund von Desensibilisierung, so dass die Schmerzempfindung in der behandelten Körperregion herabgesetzt oder gestoppt wird. Da Capsaicin-sensitive Rezeptoren, die die Substanz P ausschütten, in vielen Geweben lokalisiert sind, besteht der Ausblick, auch in diesen Geweben (d.h. Gastrointestinaltrakt, Herz, Gehirn und die Skelettmuskulatur) Schmerzen zu behandeln.<sup>121</sup> Kopfschmerzen, rheumatische Arthritis und Osteoarthritis konnten so bereits behandelt werden.<sup>13, 40</sup>

Capsaicinoide aktivieren einen Oberflächenrezeptor, den Vanilloidrezeptor (VR 1), der vor allem in Nervenzellen der Schmerzwahrnehmung und -verarbeitung (Nozizeption) exprimiert wird. VR 1 wird durch Vanilloide, extrazelluläre Protonen und hohe Temperaturen aktiviert und spielt eine zentrale Rolle in neural bedingten Entzündungen.<sup>128</sup> *Buck und Burks*<sup>121</sup> stellen Vermutungen an, ob Capsaicin eine endogene, Schmerz auslösende Substanz imitieren kann und somit wichtige therapeutische Ansätze eröffnet: ein Antagonist zu Capsaicin könnte ein neues Analgetikum sein, während ein Analogon zu Capsaicin, das keine Schmerzempfindung hervorruft, aber die Fähigkeit, die Capsaicin-Rezeptoren zu desensibilisieren, beibehält, ein möglicherweise wertvolles Schmerzmittel sein könnte.

Capsaicin und möglicherweise auch andere Vanilloide besitzen ein vielfältiges Muster an biologischen Aktivitäten, die auf weitere zelluläre Ziele gerichtet sind<sup>128</sup>.

Die Arbeitsgruppe um *Watanabe*<sup>129-133</sup> untersucht seit ca. fünf Jahren die Wirkung von den nicht als scharf empfundenen Capsinoiden, den Ester-Analogen der Capsaicinoide, die aus einer gezüchteten *Capsicum*-Mutante gewonnen werden. Diese bewirken die Anhebung der Catecholamin-Sekretion, des Energiestoffwechsels, des Sauerstoffverbrauchs und der Körpertemperatur. Durch den erhöhten Energie-, d.h. Fettstoffwechsel, wird das Körpergewicht reduziert. Unklar ist derzeit noch, ob Schmerzleitungen ebenfalls analgetisch desensibilisiert werden und ob der Vanilloidrezeptor eine Rolle spielt.

### **1.7.8 Analytik**

Aufgrund ihrer breiten Verwendung der Capsaicinoide in vielen Industriezweigen ist es wichtig, den Gehalt zu messen.

Viele Veröffentlichungen befassen sich mit der Bestimmung und Bewertung von Capsaicinoiden in *Capsicum*-Pflanzen, Oleoresinen und extrakthaltigen Produkten. Analysenmethoden, um die Schärfe zu bestimmen, können in fünf Gruppen kategorisiert werden:

1. organoleptisch,
2. kolorimetrisch (Reaktion einer chromogenen Substanz mit der phenolischen Hydroxylgruppe des Vanillylrestes),
3. dünnschicht- und papierchromatographisch,
4. gaschromatographisch und
5. hochleistungsflüssigchromatographisch.

Die Schärfe von Paprika kann in Scoville heat units (SHU) ausgedrückt werden. Der Scoville-Test war die erste bewährte Messmethode, um Schärfe zu bestimmen. Für diese Bestimmung testet ein „Gremium“ von fünf Personen Paprikaprobe und erfasst den Schärfeegrad. Obwohl diese Methode immer noch eine Standardmethode für die Schärfeanalytik ist, stößt sie an ihre Grenzen. Die Verkoster müssen speziell trainiert werden und ihre Fähigkeit, viele Proben zu testen, ist begrenzt durch die Schärfe der Probelösungen und Desensibilisierung. Die Verkoster ermüden und können auch nicht zwischen den einzelnen Capsaicinoiden unterscheiden. Aus diesem Grund wurde der Scoville-Test durch instrumentelle Methoden ersetzt.

Die HPLC ist die Standardmethode für die Routineanalytik in der verarbeitenden Industrie. Sie liefert genaue Resultate hinsichtlich Gehalt und Capsaicinoidtyp in der vorliegenden Chiliprobe. Ein übliches Vorgehen ist die Multiplikation des Capsaicinoidgehaltes in mg/kg mit dem Faktor 15, um in SHU umzurechnen.<sup>13</sup>

Mit der Probenaufarbeitung nach *Kirschbaum*<sup>60</sup> und der HPLC-Trennung nach *Peusch*<sup>134-136</sup> an einer RP-18e-Säule und Fluoreszenzdetektion liegt eine robuste und reproduzierbare Methode vor. Im Vordergrund steht hierbei die Trennung und Analyse der Hauptcapsaicinoide C, DC und NDC. Als externer Kalibrierstandard für die Quantifizierung aller Capsaicinoide kann Pelargonsäurevanillylamid (PSVA) verwendet werden, da die Emission der Fluoreszenz-Strahlung vom Vanillylrest verursacht wird und damit der Einfluss des enthaltenen Fettsäurerestes auf die molare Fluoreszenzausbeute vernachlässigt werden kann. Die Erstellung nur einer Kalibriergeraden führt zu einem großen Zeitersparnis. Zudem ist PSVA der preiswerteste, käuflich zu erwerbende Standard, der als synthetisch gewonnene

Substanz in höherer Reinheit als die aus natürlichem Material isolierten Capsaicin-, Dihydrocapsaicin- und Nordihydrocapsaicin-Standards vorliegt.

## 1.8 Zielsetzung

Die Konsumenten erwarten Paprikafrüchte und -produkte von mild bis sehr scharf. Um dieser Anforderung nachzukommen, sollte das Saatgut von *Capsicum*-Arten abstammen, deren Früchte einen möglichst homogenen und gegenüber Umwelteinflüssen toleranten Scharfstoffgehalt aufweisen. Die Wachstumsbedingungen wie Düngung, Bewässerung, Klima, Bodenverhältnisse und Erntezeitpunkt müssen genauso kontrolliert werden wie die Verarbeitungsschritte während des Waschens, der Zerkleinerung, der Trocknung, der Vermahlung und der Lagerung, wenn die Produzenten die gewünschte Qualität liefern möchten.

Dementsprechend befassen sich viele Veröffentlichungen einerseits mit den genetischen Grundlagen der Capsaicinoidbiosynthese, indem z. B. Hybride gezüchtet oder Wildtypen wieder entdeckt und untersucht werden<sup>97, 137, 138</sup>, und andererseits mit dem Einfluss der Wachstums- und Verarbeitungsbedingungen.

Im Gegensatz zu den meisten Arbeitsgruppen, die den Einfluss der Verarbeitungsparameter auf die Qualitätsfaktoren Farbe und Aroma untersuchen, befasste sich *Kirschbaum*<sup>60</sup> mit dem Einfluss der Verarbeitung auf Schärfegehalt und -stabilität. Erforderlich bei *Kirschbaums*<sup>60</sup> Untersuchungen war definiertes Ausgangsmaterial. Gekaufte Früchte erwiesen sich als sehr heterogen im Scharfstoffgehalt. Aber auch durch Gewächshausanbau gewonnene Früchte unterschiedlichen Alters von drei Sträuchern ein und derselben Varietät offenbarten eine starke Heterogenität von Frucht zu Frucht.<sup>108</sup> Da dieses Phänomen in der bisherigen Literatur noch nicht diskutiert oder eventuell sogar negiert worden ist, bedurfte es weiterer Untersuchungen für eine statistische Bearbeitung der Daten.

Die bisherigen Literaturergebnisse zu Capsaicinoidgehalt und -stabilität ließen sich kaum vergleichen, da die Scharfstoffgehalte auf das Frisch- oder Trockengewicht einzelner Früchte oder einer nicht näher beschriebenen Fruchtmenge bezogen wurden. Details zur Probennahme fehlten, so dass neben mangelnder Nachvollziehbarkeit auch die Repräsentativität der Probenauswahl unklar blieb. Weiterhin legten die stets geringen Standardabweichungen die Vermutung nahe, dass es sich bei den

als Mehrfachbestimmung deklarierten Untersuchungen doch eher um Mehrfachmessungen handelte.

Eindeutig war nur, dass 14 Tage nach der Blüte ein messbarer Capsaicinoidgehalt vorliegt und im Verlauf von Fruchtwachstum und -reife weiter zunimmt. Ob er auch wieder abnimmt, ist noch unklar. Durch Früchte definierten Alters, die einzeln aufgearbeitet und analysiert werden, sollte überprüft werden, ob eine Abhängigkeit zwischen Alter, Position am Strauch, Fruchtgewicht und Capsaicinoidgehalt der Früchte besteht.

Bei zerkleinerten Paprikafrüchten treten abhängig von der Temperatur und dem Wasserverlust Verluste an Scharfstoffen auf, wohingegen ganze Früchte keinem Capsaicinoidabbau unterliegen.<sup>139</sup> Da dies auf die Beteiligung von Enzymen hinweist und in der Literatur beschrieben wird, dass Peroxidasen Capsaicinoide zu ligninartigen Produkten umbauen können (Kapitel 1.7.6.1), sollten Lagerungsbedingungen für zerkleinertes Fruchtmaterial gewählt werden, die entweder fördernd oder hemmend auf beteiligte Enzyme, insbesondere Peroxidasen, wirken.

Da in der Literatur ebenfalls beschrieben wird, dass Peroxidasen in überreifen Früchten den Scharfstoffgehalt verringern, sollte mit definiertem Ausgangsmaterial, d.h. eigenen Früchten aus dem Gewächshaus, weiterhin die Stärke des Capsaicinoidabbaus in zerkleinerten Gewürzpaprikafrüchten in Abhängigkeit vom Fruchtalter bestimmt werden.

## 2 UNTERSUCHUNGEN UND ERGEBNISSE

### 2.1 Heterogenität im Capsaicinoidgehalt von Gewürzpaprikafrüchten identischer Herkunft: Nodium und Erntezeitpunkt

#### 2.1.1 Ausgangslage

Die Capsaicinoide werden in den Epidermiszellen der Plazenta synthetisiert, so dass der Scharfstoffgehalt in der Plazenta am höchsten ist. Die Scharfstoffe werden als öliges Exkret über Drüsen unter die Cuticula ausgeschieden und verteilen sich nachfolgend von der Plazenta in die Samen, die Scheidewände und das Perikarp, wobei die Samen die Capsaicinoide aufgrund ihrer Nähe zur Plazenta am stärksten absorbieren.

Arbeitsgruppen, die sich mit dem Scharfstoffgehalt während der Fruchtentwicklung und -reife beschäftigten, beobachteten, dass die Capsaicinoide ab dem 10.-14. Tag gebildet werden, sich bis zum 30.-40. Tag anreichern und danach einen konstanten oder fallenden Gehalt aufweisen (Kapitel 1.7.4).

*Kirschbaum*<sup>60, 140</sup> beobachtete, dass sich die Capsaicinoidgehalte einzelner Früchte stark voneinander unterscheiden, auch wenn sie unter denselben Bedingungen angebaut und unter identischen Bedingungen bis zur Aufarbeitung aufbewahrt werden. Untersucht wurden 45 Einzelfrüchte von drei *Capsicum*-Büschen (*C. annum* „Pfeffer de Cayenne“) aus verschiedenen Altersstufen: 14 Tage (6 Früchte), 20-25 Tage (12 Früchte), 33-42 Tage (16 Früchte) und 62-66 Tage (4 Früchte). Außerdem wurden 7 Früchte aus der zweiten Blüte mit unbekanntem Fruchtalter ebenfalls einzeln aufgearbeitet und zu einem Vergleich herangezogen. Mit Konzentrationen zwischen etwa 200 mg/kg und 800 mg/kg zeigte sich eine vom Alter der Früchte unabhängige, recht große Spannweite.

Zeitlich nach *Kirschbaums* Studien bemerkten *Zewdie und Bosland*<sup>141</sup> den Einfluss der Fruchtposition am Strauch auf den Scharfstoffgehalt, indem der Capsaicinoidgehalt vom zweiten bis zum letzten Nodium abnimmt. Sie führten dies auf die Nährstoffkonkurrenz zurück, die umso stärker besteht, je mehr Früchte an der Pflanze heranwachsen. Aber auch bei diesen Untersuchungen wurden wie bei allen

erwähnten Studien nicht einzelne Früchte, sondern Material aus mehreren Früchten vermischt, zusammen aufgearbeitet und analysiert. Hierzu findet sich einzig die Angabe, dass rote, reife Früchte untersucht wurden. Angaben, wie viele Früchte geerntet und vermengt wurden, fehlen.

Der im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführte Anbauversuch sollte wichtige zusätzliche Daten liefern, indem nur Früchte ein und desselben Strauches verglichen wurden. Somit ließ sich die Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes von Alter, Fruchtgewicht und Fruchtposition am Strauch bestimmen.

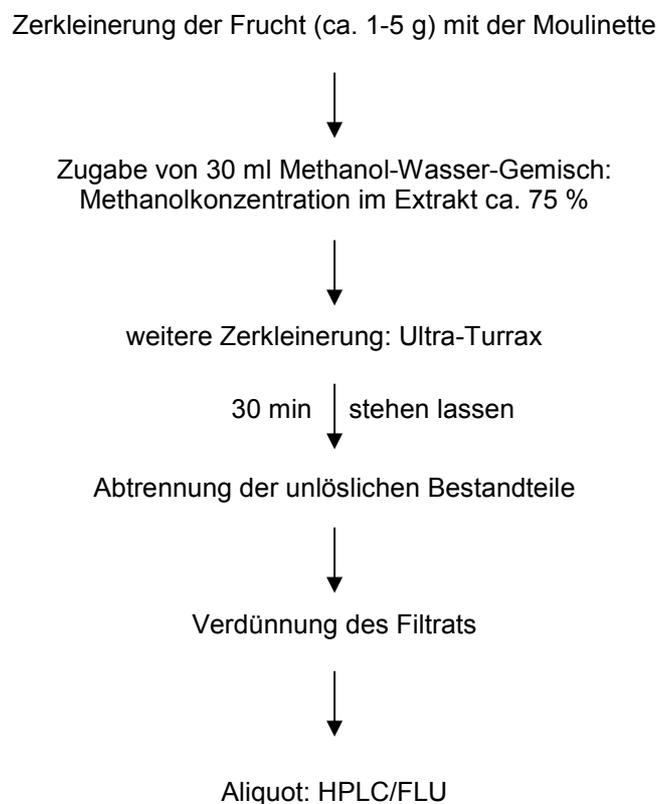
### 2.1.2 Anbau 2001

Im Zeitraum von März bis September in den beiden Jahren 2001 und 2002 wurden im universitätseigenen Gewächshaus, das konstante klimatische Bedingungen liefert, Chilipflanzen angebaut. Die Samen wurden aus dem Einzelhandel von folgenden Arten bezogen: Cayenne (*C. annuum* L. var. *annuum*), De Arból (*C. annuum* L. var. *annuum*), Ungarische Kirschaprika (*C. annuum* L. var. *annuum*), Jalapeño (*C. annuum* L. var. *annuum*), Sibirische Hauspaprika (*C. frutescens* L.), Tabasco (*C. frutescens* L.) und Habanero (*C. chinense* Jacqu.).<sup>142, 143</sup> Unter den gegebenen Gewächshausparametern gedeihen die Pflanzen der Sorten Sibirische Hauspaprika, Cayenne und De Arból besonders gut.

Nach zwei Monaten betrug die Größe der Pflanzen ca. 30 cm, was der Hälfte von ausgewachsenen Pflanzen entspricht. Zu diesem Zeitpunkt besaßen die Pflanzen 1-2 Verzweigungen in der Sprossachse, die bei *Capsicum*-Pflanzen aus den Blattansatzstellen oder deren Achselknospen entstehen und deren botanische Bezeichnung „Nodium“ lautet, und in der ersten Verzweigung bildete sich die erste Blütenknospe. Während die Knospe reifte, sich eine Blüte bildete und öffnete, die Blüte bestäubt wurde und eine Frucht entstand, wuchs die Sprossachse mit ihren Verzweigungen kontinuierlich weiter. Parallel zum Sprosswachstum entstanden weitere Blüten, so dass bei einem Zeitraum von 5-6 Wochen zwischen der ersten und der letzten Blütenknospe Blüten und Früchte in den unterschiedlichsten Entwicklungsstadien vorlagen.

In den Verzweigungen der Sprossachse befand sich meistens nur eine Blüte, selten waren zwei oder drei Blüten. Jede einzelne Blüte wurde so markiert, dass das Datum

ihrer Öffnung zurückverfolgt werden konnte. Am Tag der Fruchternte wurden ebenfalls die Positionen der Früchte an der Pflanze dokumentiert. Alle Früchte einer Pflanze wurden innerhalb eines Tages, also zu einem Zeitpunkt, geerntet, um nicht eine eventuelle Nährstoffkonkurrenz durch das Ernten einiger Früchte zu beeinflussen. 2001 wurden ca. 300 Früchte von jeweils zwei Pflanzen der Sorten Sibirische Hauspaprika, Cayenne und De Arból geerntet, in flüssigem Stickstoff schnell eingefroren, bis zum Tag der Aufarbeitung im Tiefkühlgerät bei -18 °C maximal 50 Tage aufbewahrt, entsprechend Abbildung 7 einzeln aufgearbeitet und deren Scharfstoffgehalt analysiert.



**Abbildung 7: Aufarbeitungsschema für Einzelfrüchte**

Der Vergleich der über 300 Einzelfrüchte erwies sich als schwierig, weil pro Fruchtalter und Nodium nur 1-10 Früchte zur Verfügung standen, Fruchtalter und Nodium aufgrund der Ernte zu einem bestimmten Zeitpunkt nicht beeinflussbar waren und pro Pflanze nur eine kleine Früchteanzahl vorlag.

Als erster visueller Anhaltspunkt wurde der Aufbau der Pflanzen als Fließschema nachgebildet. Die Verbindungslinien entsprechen der Sprossachse. Die Rechtecke sollen die Verzweigungen (= Nodien) mit ihren Blüten wiedergeben. An der linken

Seite sind die Nodienzahlen aufgeführt. In manchen Verzweigungen wurden die Blüten nicht befruchtet oder nach heißen Tagen abgeworfen. In diesem Fall bleiben die Rechtecke leer. Andernfalls stehen die Zahlen in den Rechtecken für das Fruchtalter [d] oder den Capsaicinoidgehalt [mg/Frucht]. Die Angabe des Capsaicinoidgehaltes bezieht sich auf die Frucht, weil davon ausgegangen wird, dass sich am Anfang des Fruchtwachstums die Capsaicinoid-produzierende Plazenta schwerpunktmäßig herausbildet. Ab einem bestimmten Zeitpunkt werden keine Capsaicinoide mehr gebildet, das Fruchtlängenwachstum wird eingestellt und das Perikarp verdickt sich. *Schratz und Rangoonwala*<sup>84</sup> bemerkten bereits, dass die Capsaicinoide dann weder abgebaut noch vermehrt werden, während sie in den unreifen Früchten gebildet werden, hierbei schon ihren höchsten Wert erreichen und die Früchte bei der Reifung weiter wachsen. Der relative Gehalt pro Fruchtgewicht vermindert sich also mit zunehmender Reife. Der absolute Capsaicin Gehalt einer ganzen Frucht bleibt jedoch konstant. Da unterschiedlich alte, teilweise auch schon an der Pflanze getrocknete Früchte untersucht wurden oder manche Früchte ein stärkeres Fruchtfleisch aufwiesen, ohne eine größere Plazenta ausgebildet zu haben, würde der Bezug auf eine einheitliche Menge wie Gramm oder Kilogramm den Vergleich der Scharfstoffgehalte von Einzelfrüchten verfälschen.

Abbildung 8 stellt schematisch den Aufbau der Pflanze b der Sibirischen Hauspaprika (2001) dar.

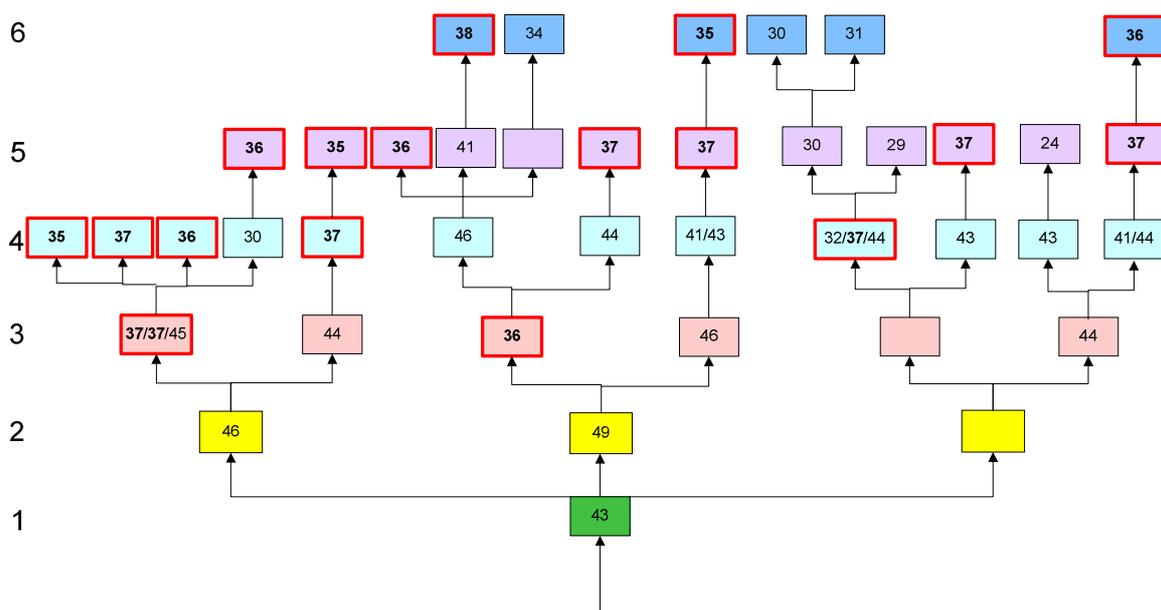


Abbildung 8: Sibirische Hauspaprika, Alter [d] der Früchte von Pflanze b (Anbaujahr 2001)

Da nur Früchte mit gemeinsamen Merkmalen verglichen werden können, wurden Früchte gleichen Alters gesucht. Aufgrund einer hohen Fruchtezah und der gleichmäßigen Verteilung über alle Nodien fiel die Wahl auf Früchte mit einem Alter von 35-38 Tagen, die in Abbildung 8 bereits mit einem roten Rahmen herausgestellt worden sind. In Abbildung 9 wurden die Capsaicinoidgehalte von 35-38 Tage alten Früchten ebenfalls durch einen roten Rahmen betont.

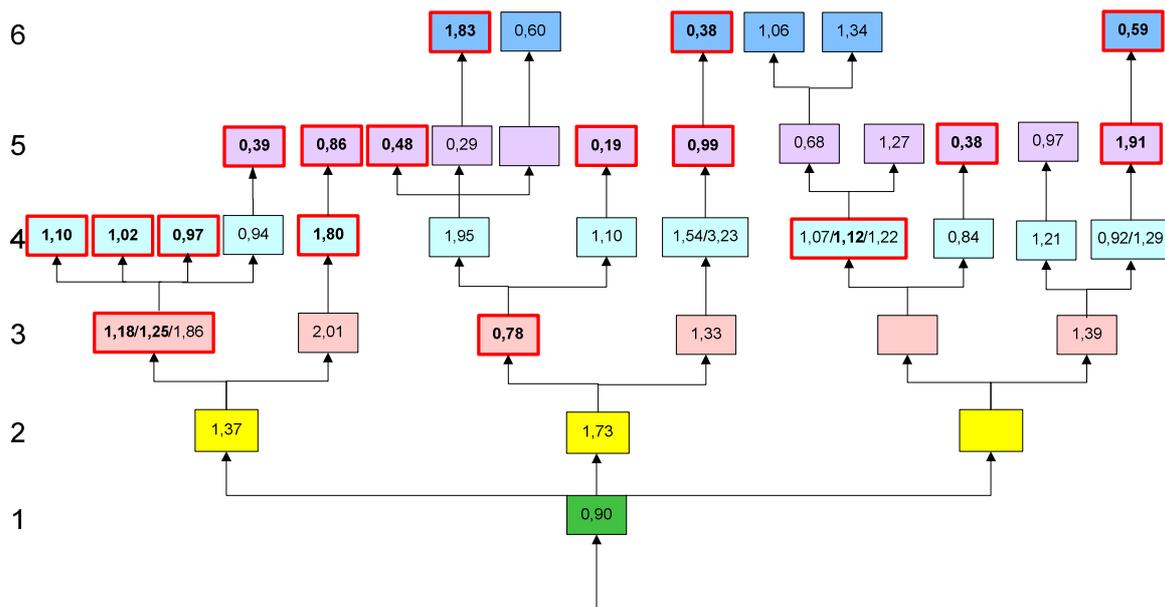


Abbildung 9: Sibirische Hauspaprika, Capsaicinoidgehalt [mg/Frucht] der Früchte von Pflanze b (Anbaujahr 2001)

Auffällig sind die hohen Schwankungen, die Früchte trotz gleichen Alters im Capsaicinoidgehalt aufweisen. Die Scharfstoffgehalte schwanken im dritten Nodium zwischen 0,78 und 1,25 mg/Frucht, was einem Faktor von 1,6 entspricht. Auch im vierten Nodium ist eine hohe Schwankungsbreite von 0,97 bis 1,80 mg/Frucht zu beobachten. Für das fünfte und sechste Nodium wurden sogar Unterschiede im Scharfstoffgehalt um den Faktor 10,0 und 4,8 berechnet.

Die starken Schwankungen erlauben infolgedessen kein Urteil darüber, ob eine Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Nodium besteht.

Um die Schwankungsbreite auf einem zweiten Weg zu veranschaulichen, können „Pärchen“ und „Drillinge“, d.h. zwei oder drei Früchte gleichen Alters in ein und derselben Verzweigung, verglichen werden. Gerade unter dieser Voraussetzung

bestehen für diese Früchte nicht nur die gleichen Umweltbedingungen, sondern auch eine ebenbürtige Nährstoffversorgung.

In Abbildung 10 sind die Wertepaare und -drillinge mit einem roten Rahmen und mit Pfeilen hervorgehoben.

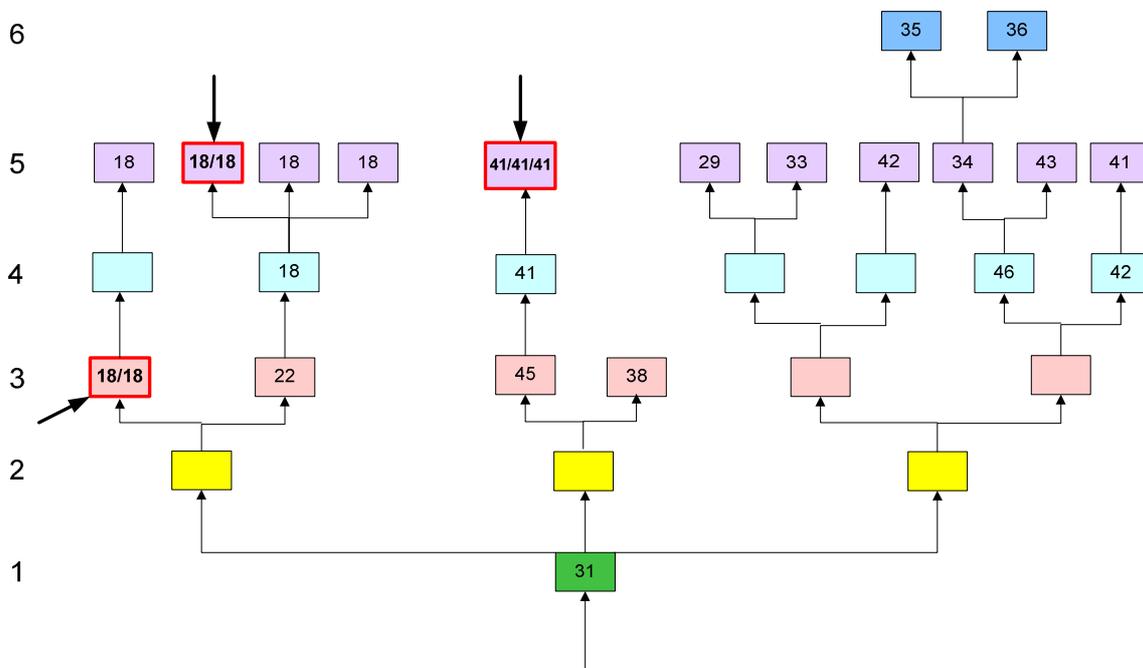


Abbildung 10: Cayenne, Alter [d] der Früchte von Pflanze a (Anbaujahr 2001)

Günstigerweise besitzt Cayennepflanze a bei den „Pärchen“ und „Drillingen“ junge und ältere Früchte, so dass der Vergleich innerhalb von zwei Entwicklungsstufen durchgeführt werden kann.

Abbildung 11 gibt Cayennepflanze a mit den Capsaicinoidgehalten der Einzelfrüchte wieder.

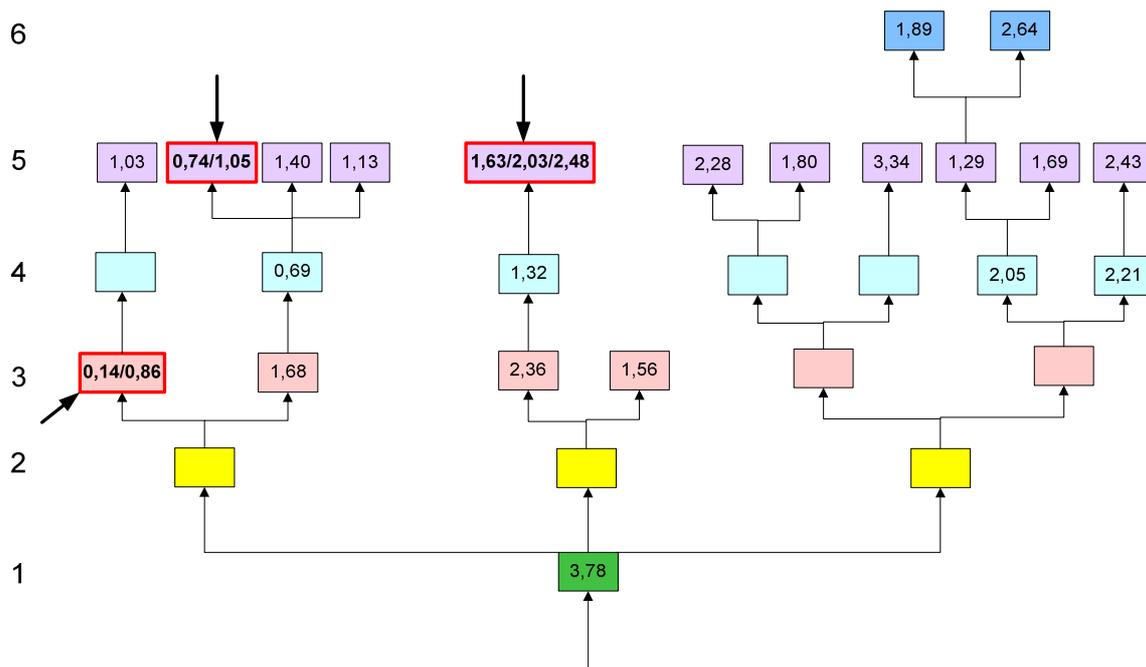
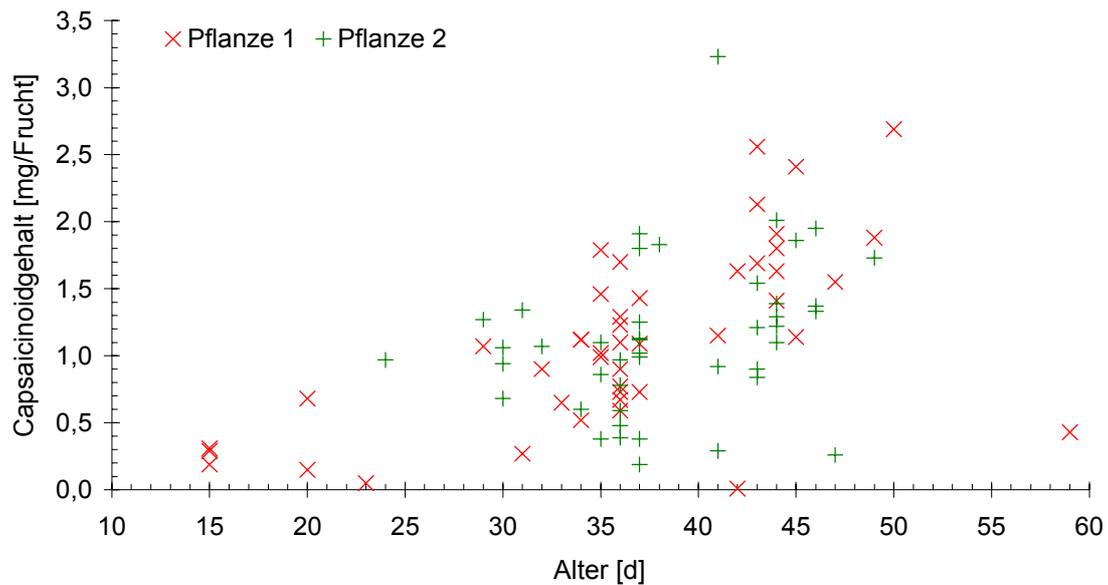


Abbildung 11: Cayenne, Capsaicinoidgehalt [mg/Frucht] der Früchte von Pflanze a (Anbaujahr 2001)

Das „Pärchen“ im dritten Nodium (18 d) unterscheidet sich um mehr als den Faktor 5 im Capsaicinoidgehalt. Auch die dem „Drilling“ zugeordneten Früchte (41 d) weisen unterschiedliche Scharfstoffgehalte auf. Die Frucht mit der geringsten Schärfe enthält nur 66 % des Capsaicinoidgehaltes der schärfsten Frucht. Die Diskrepanz tritt in beiden Altersstufen auf und ist somit nicht darauf zurückzuführen, dass jüngere Früchte eventuell unterschiedlich schnell wachsen.

Die weiteren Abbildungen, die die Fruchtpositionen an den anderen untersuchten Pflanzen wiedergeben, sind im **Anhang** (Kapitel 9.2) aufgeführt.

Weiterhin wurde geprüft, ob die Capsaicinoidgehalte der beiden Pflanzen der Sibirischen Hauspaprika vom Fruchtalter abhängen. Das Ergebnis ist im folgenden Diagramm dargestellt (Abbildung 12).

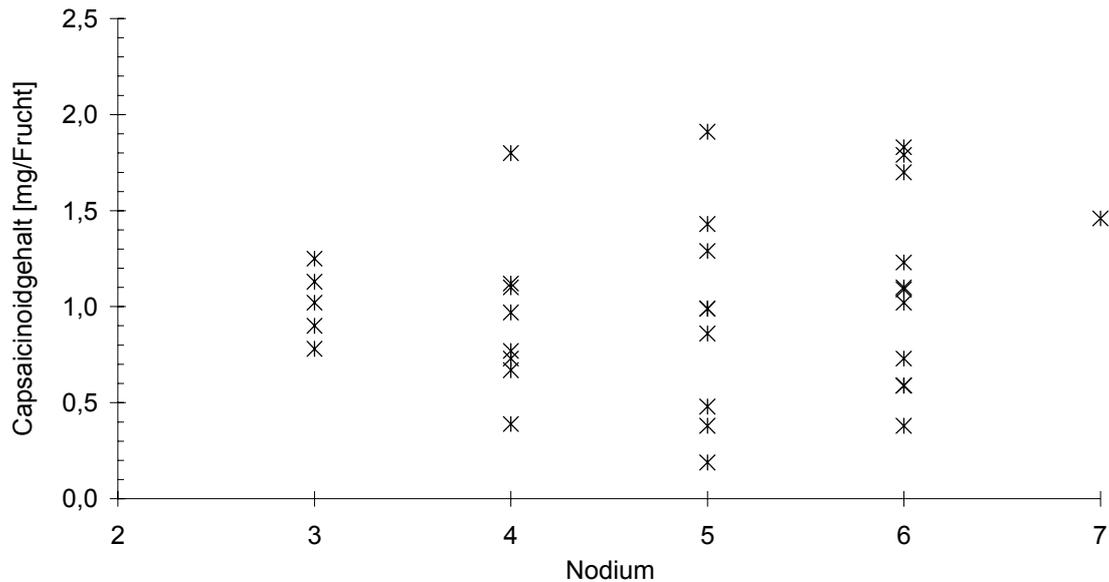


**Abbildung 12: Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Alter (Sibirische Hauspaprika, 2 Pflanzen, Anbaujahr 2001)**

Ein altersabhängiger Scharfstoffgehalt ist nur insofern zu beobachten, dass ab dem 15. Tag nach der Blüte Capsaicinoide gemessen werden konnten. Ab einem Fruchtalter von 30 Tagen traten hohe Scharfstoffgehalte auf, die eine starke Streuung aufwiesen.

Um weiterhin zu überprüfen, ob der Scharfstoffgehalt der Früchte von deren Position an der Pflanze abhängt, wurden die Werte in ein Diagramm (Abbildung 13) übertragen.

Die Früchte sollten hierbei einer gemeinsamen Altersstufe entstammen, da sich z. B. gerade junge Früchte, deren Capsaicinoidsynthese und -anreicherung gerade erst begonnen haben, in den höheren Nodien befanden. Die älteren Früchte waren wiederum eher in den unteren Nodien der noch jungen Pflanze gewachsen. Diese Extreme sollten demzufolge vermieden werden. Somit wurden Früchte mit einem Alter von 35-38 Tagen ausgewählt, da viele Früchte dieses Alter besaßen und dies weiterhin einem mittleren Alter entspricht, in dem bereits ausreichend Capsaicinoide gebildet worden sind, aber die Frucht noch nicht überreif ist.



**Abbildung 13: Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Nodium für das Fruchtalter 35-38 d (Sibirische Hauspaprika, 2 Pflanzen, Anbaujahr 2001)**

Aufgrund der starken Streuung von 0,2-1,9 mg/Frucht lässt sich keine Aussage zur Abhängigkeit des Scharfstoffgehaltes vom Nodium treffen. Die Ergebnisse sind ähnlich unübersichtlich für die zwei weiteren Arten Cayenne und De Arból mit jeweils 2 Pflanzen.

Um nun zu erkennen, ob statistisch signifikante Unterschiede bestehen, wurden die 90 % - Vertrauensbereiche verglichen. Hierfür wurde die Annahme getroffen, dass die Grundgesamtheit der Capsaicinoidgehalte der Normalverteilung unterliegt. Die t-Faktoren berücksichtigten die sehr unterschiedliche Aussagekraft und Zuverlässigkeit der errechneten Standardabweichung.

Zuerst wurden die Einzelfrüchte in Altersgruppen eingeteilt, z. B.: jung, mittel und reif. Die Altersgruppen wurden ein zweites Mal in die vorkommenden Nodien eingeteilt. Aus den Daten der Einzelfrüchte, Fruchtalter, Nodienposition, Fruchtgewicht und Capsaicinoidgehalt, wurden für jede eingeteilte Gruppe die Summen, Mittelwerte, Standardabweichungen und 90 % - Konfidenzintervalle berechnet.

Mit diesem Vorgehen kann vorerst überprüft werden, ob der Capsaicinoidgehalt vom Nodium abhängt, da hierbei der Parameter „Fruchtalter“ konstant gehalten wird. In Abbildung 14 werden vier Altersgruppen beschrieben, die über fünf Nodien verteilt sind. Allerdings ist nicht jede Altersgruppe auf jedem Nodium vertreten.

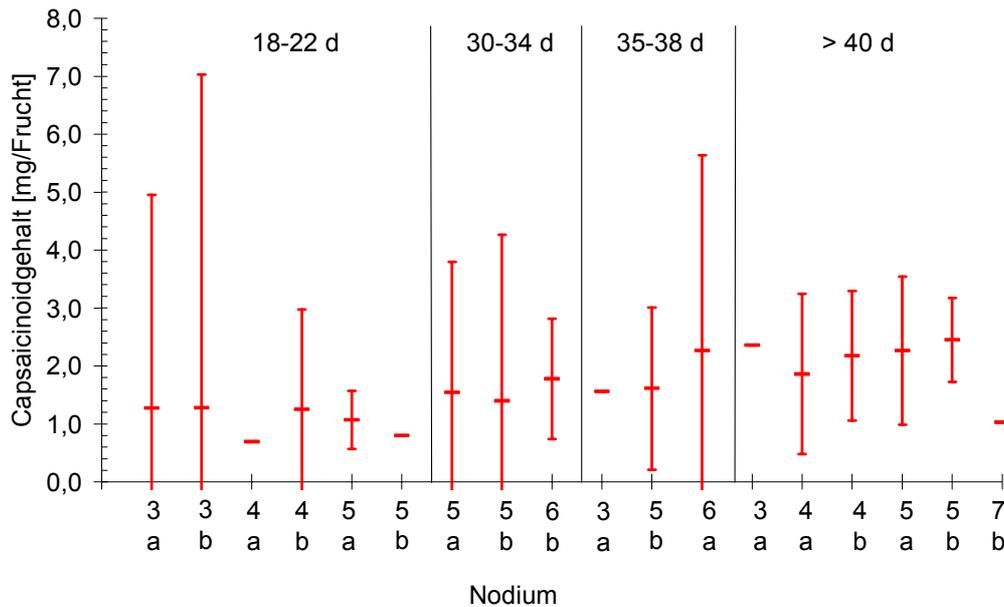


Abbildung 14: Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Nodium mit 90 %-Vertrauensbereich (Cayenne, 2 Pflanzen a und b, 56 Einzelfrüchte, Anbaujahr 2001)

Innerhalb aller vier Altersgruppen wurden für die Capsaicinoidmittelwerte der Nodien große, sich überschneidende 90 % - Vertrauensbereiche berechnet, so dass keine Abhängigkeit des Scharfstoffgehaltes vom Nodium zu beobachten ist.

Da die Capsaicinoidgehalte der Früchte nicht vom Nodium abhängen, ist es im zweiten Schritt möglich, die Altersgruppen zusammenzufassen und somit die Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Fruchtalter zu untersuchen (Abbildung 15).

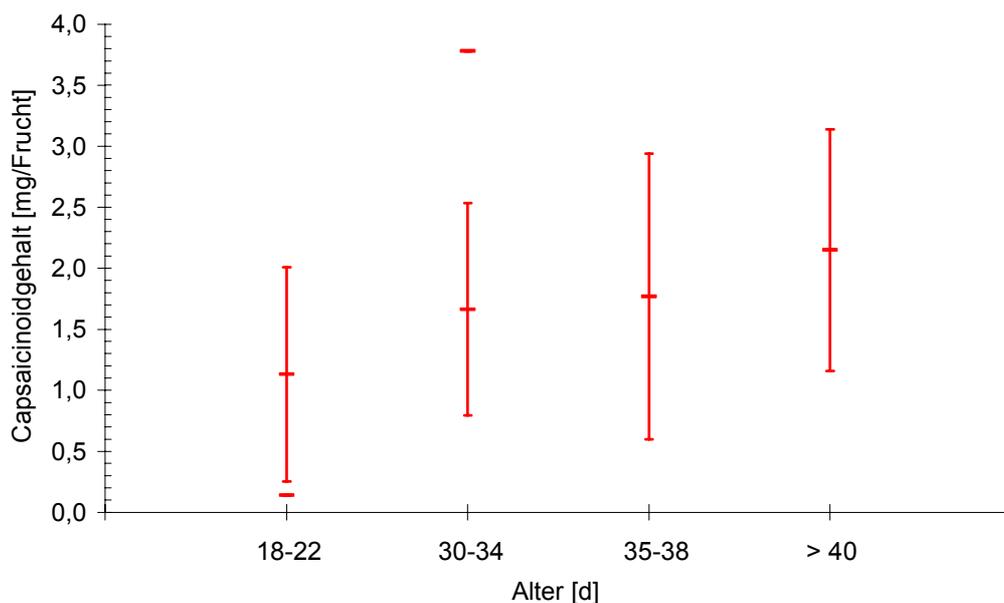


Abbildung 15: Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Fruchtalter mit 90 %-Vertrauensbereich und 2 Ausreißer (Cayenne, 2 Pflanzen a und b, 56 Einzelfrüchte, Anbaujahr 2001)

Aufgrund der starken Streuung überschneiden sich die 90 % - Vertrauensbereiche für die vier Altersstufen so stark, dass keine Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Fruchtalter zu erkennen ist.

In gleicher Weise lassen sich statistisch signifikante Unterschiede im Scharfstoffgehalt von Früchten der beiden Pflanzen der Sibirischen Hauspaprika untersuchen. Abbildung 16 umfasst drei Altersgruppen, die über sieben Nodien verteilt sind. Nicht jede Altersgruppe ist auf jedem Nodium vertreten.

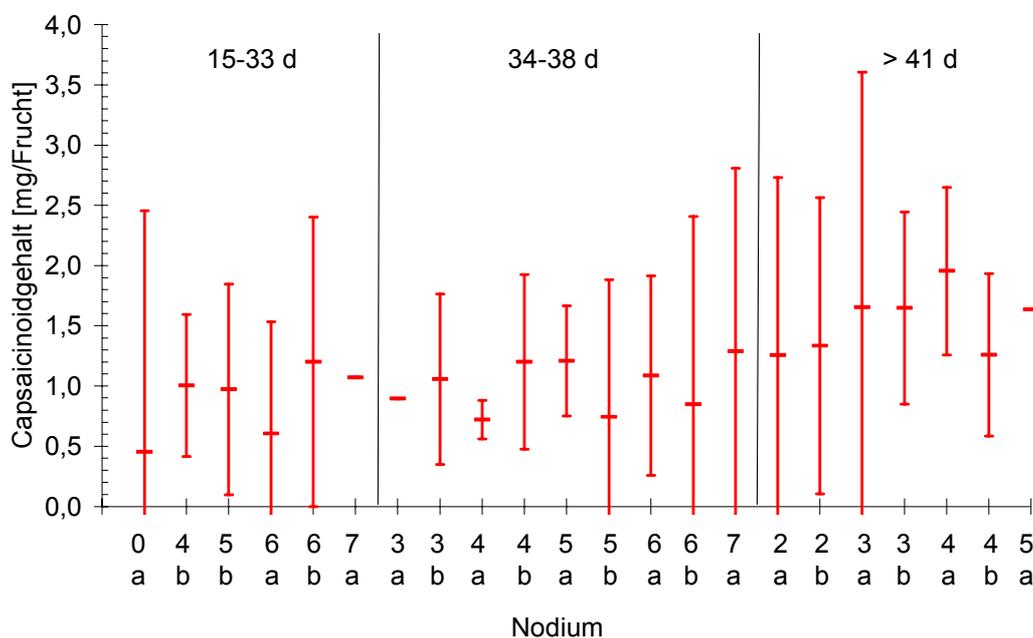
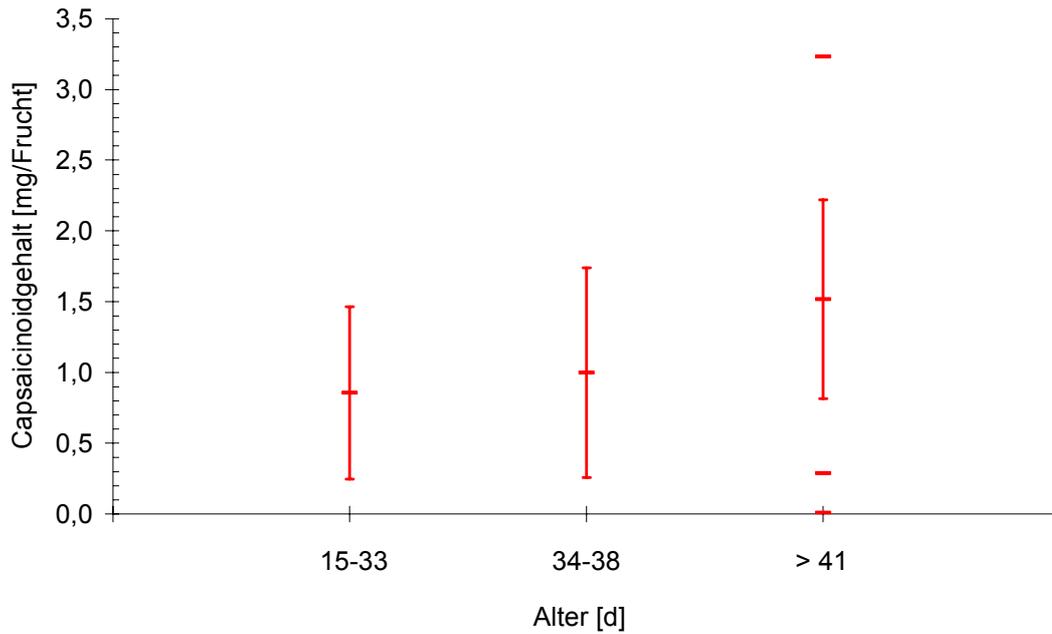


Abbildung 16: Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Nodium mit 90 %-Vertrauensbereich (Sibirische Hauspaprika, 2 Pflanzen a und b, 80 Einzelfrüchte, Anbaujahr 2001)

Auch im Fall der Sibirischen Hauspaprika wurden für alle drei Altersstufen aufgrund der schwankenden Scharfstoffgehalte innerhalb der einzelnen Nodien wieder große 90 % - Konfidenzintervalle berechnet, so dass keine Abhängigkeit vom Nodium zu beobachten ist.

Da die Capsaicinoidgehalte nicht vom Nodium abhängen, ist es nachfolgend möglich, die Altersgruppen zusammenzufassen und somit die Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Fruchtalter zu überprüfen (Abbildung 17).

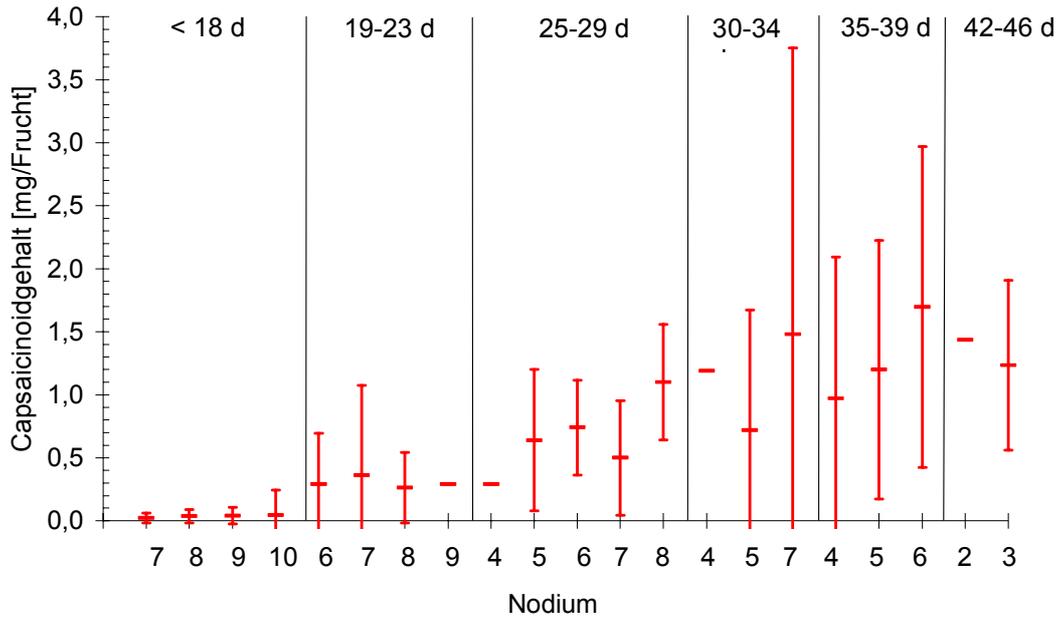


**Abbildung 17: Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Fruchtalter mit 90 %-Vertrauensbereich und 3 Ausreißer (Sibirische Hauspaprika, 2 Pflanzen a und b, 80 Einzelfrüchte, Anbaujahr 2001)**

Aufgrund der starken Streuung überschneiden sich die 90 % - Vertrauensbereiche für die vier Altersstufen so stark, dass keine Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Fruchtalter zu erkennen ist. Allerdings standen für die Altersgruppen „34-38 Tage“ und „> 41 Tage“ 38 Früchte und 29 Früchte zur Verfügung. Dem gegenüber lagen für das – aus diesem Grund auch sehr weit gefasste – Alter „15-33 Tage“ nur 13 Früchte vor. Dies erforderte einen erneuten Anbau von Pflanzen der Sibirischen Hauspaprika im Sommer 2002.

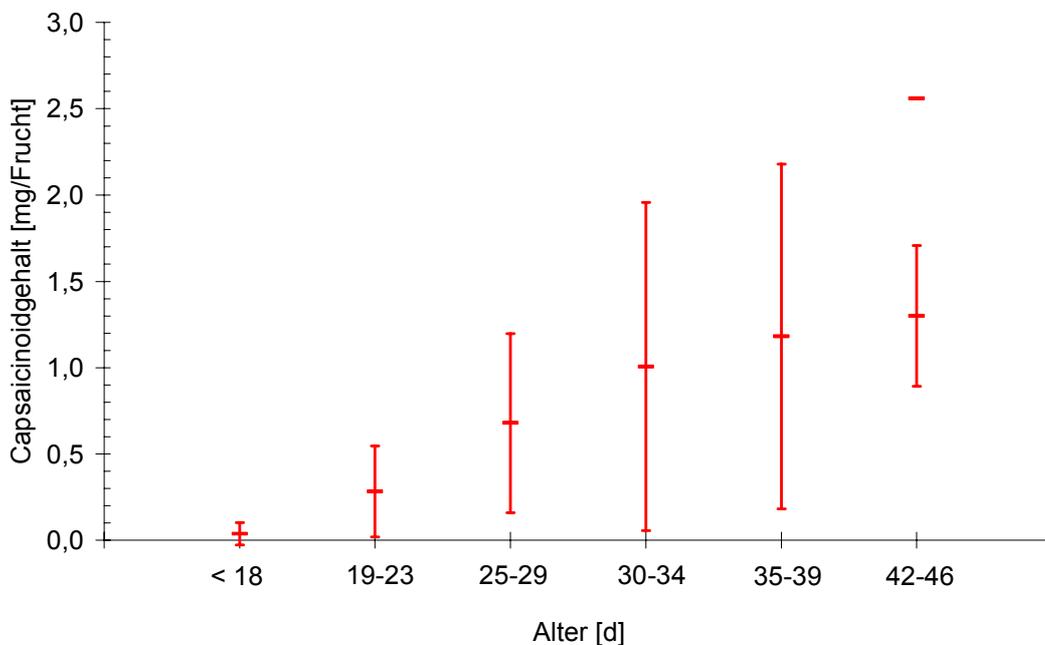
### 2.1.3 Anbau 2002

Bereits eine einzige Pflanze brachte 105 Früchte hervor. Abbildung 18 beinhaltet die sechs Altersstufen dieser Pflanze. Es sind auch 15 junge Früchte mit einem Alter von weniger als 18 Tagen im neunten Nodium sowie 11 Früchte mit einem Alter von 19-23 Tagen im achten Nodium vertreten.



**Abbildung 18: Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Nodium mit 90 %-Vertrauensbereich (Sibirische Hauspaprika, 1 Pflanze, 105 Einzel Früchte, Anbaujahr 2002)**

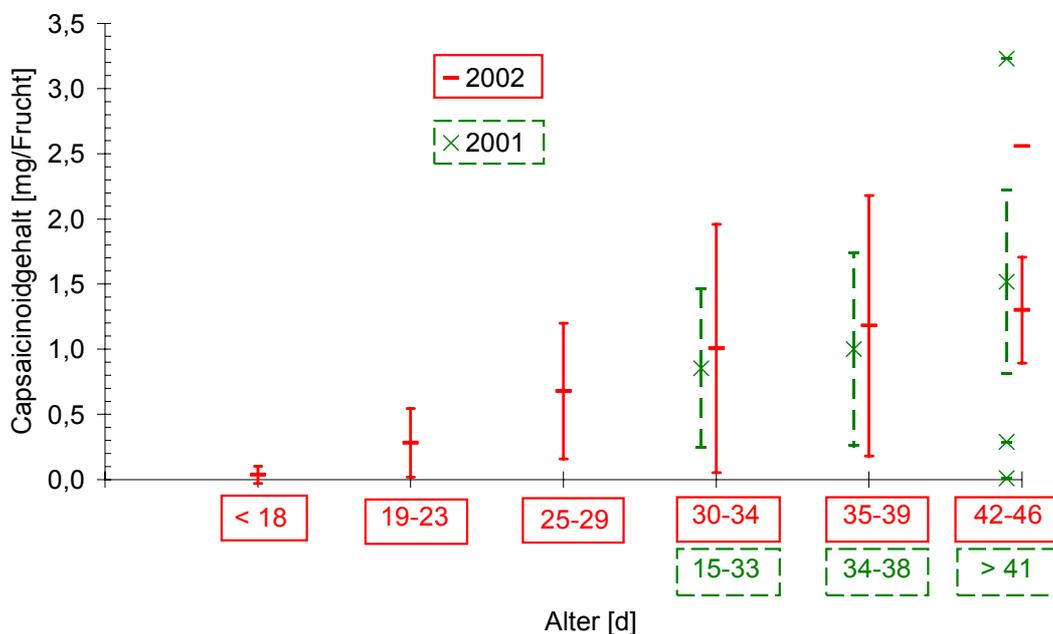
Da in allen sechs Altersstufen keine Abhängigkeit vom Nodium zu beobachten ist, ist es möglich, sie in Altersgruppen zusammenzufassen und somit die Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Fruchtalter zu untersuchen.



**Abbildung 19: Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Fruchtalter mit 90 %-Vertrauensbereich und 1 Ausreißer (Sibirische Hauspaprika, 1 Pflanze, 105 Einzel Früchte, Anbaujahr 2002)**

Anhand Abbildung 19 ist ersichtlich, dass in Früchten jünger als 18 Tage bis zu 30 Tage alten Früchten steigende Konzentrationen zu beobachten sind. Über ein Fruchtalter von 30 Tagen hinaus ist die Variabilität so stark, dass keine statistisch gesicherte Aussage getroffen werden kann. Lediglich die Gruppe der 42-46 alten Früchte ist bis auf einen Ausreißer relativ einheitlich und unterscheidet sich von den 25-29 Tage alten Früchten.

In Abbildung 20 werden die beiden Pflanzen aus 2001 mit der Pflanze aus 2002 verglichen.



**Abbildung 20: Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Fruchtalter mit 90 %-Vertrauensbereich (Sibirische Hauspaprika, 3 Pflanzen, 185 Einzelfrüchte, Anbaujahre 2001 und 2002)**

Die Werte der drei Pflanzen stimmen gut überein. Jahresbedingte Unterschiede sind nicht zu erkennen.

## 2.2 Abnahme des Capsaicinoidgehaltes bei unterschiedlichen Lagerungsbedingungen nach Zerkleinerung der Gewürzpaprikafrüchte

### 2.2.1 Ausgangslage

Bei Untersuchungen zur Capsaicinoidstabilität in frischen Früchten konnte durch *Kirschbaum*<sup>60, 108</sup> gezeigt werden, dass die in der Frucht vorhandenen Capsaicinoide erst nach Zerstörung der Zellstrukturen abgebaut werden. Es konnte hierbei eine Abhängigkeit des Capsaicinoidabbaus von der Geschwindigkeit des Wasserverlustes beobachtet werden. Bei einem langsamen Wasserverlust der Früchte war der Abbau der Capsaicinoide größer (95 %) als bei einem schnellen Verlust (70 %). Vermutet wurde ein enzymatischer Abbau, z. B. durch Peroxidasen, wie er in der Literatur an extern zugefügtem Substrat beschrieben wird, so dass das Capsaicinoid-abbauende Enzym bei einer langsameren Trocknung später inaktiviert wird und deshalb über einen längeren Zeitraum wirken kann. Für einen enzymatischen Abbau spricht auch die Tatsache, dass bei Kühlschrank-Temperatur kein Abbau stattfand, da hier enzymatische Reaktionen wegen der niedrigen Temperaturen stark verlangsamt sind.

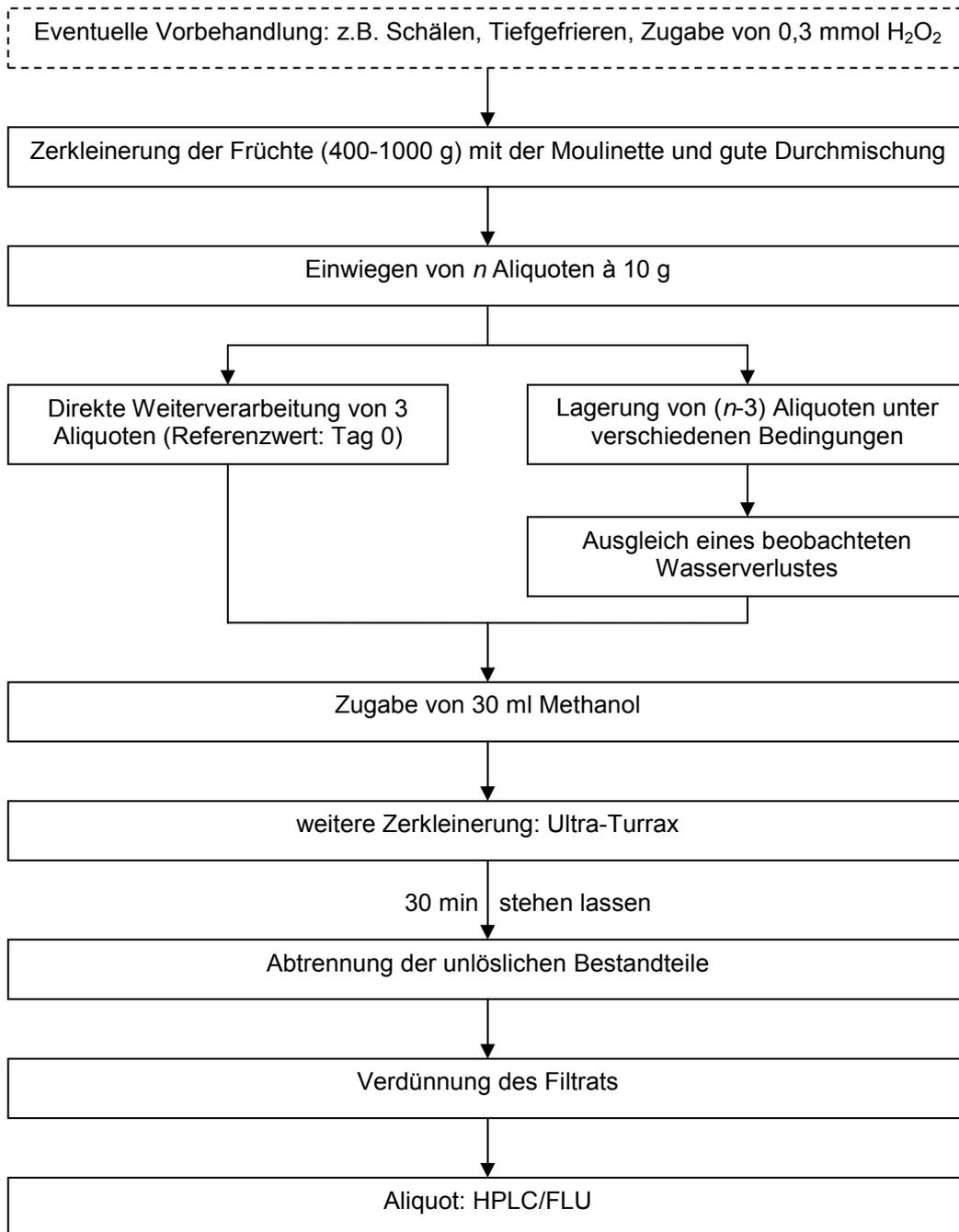
Eine enzymatische Reaktion würde ebenfalls den unterschiedlich großen prozentualen Abbau bei vergleichbaren Lagerbedingungen erklären, wie er bei der Wiederholung des Experimentes beobachtet wurde. Die Aktivität dieses Capsaicinoid-abbauenden Enzyms könnte aufgrund des unterschiedlichen Alters der Früchte verschieden sein, da *Contreras-Padilla und Yahia*<sup>46</sup> feststellten, dass mit zunehmendem Alter der Früchte die Peroxidaseaktivität zunimmt. Genauso könnte die Enzymaktivität durch den Einfluss der Erntebedingungen variieren, da *Tevini*<sup>38</sup> zeigte, dass in Lattenkisten nachgereifte Früchte die höchste spezifische Peroxidaseaktivität aufwiesen. Im Vergleich zu diesem 100 %-Wert betrug die spezifische Enzymaktivität in Früchten mit Nachreife an der Pflanze 60 % und ohne Nachreife 40 %.

Mit weiteren Lagerstudien von stark zerkleinerten Früchten sollte die Beteiligung von Enzymen, insbesondere Peroxidasen, überprüft werden. Hierfür wurden Lagerungsbedingungen geschaffen, die sich auf die enzymatische Aktivität auswirken.

- Lagerung nach nur geringer Vorzerkleinerung
- Lagerung in 0,3 mmolarer Wasserstoffperoxidlösung
- Lagerung in oxidativer und nicht-oxidativer Atmosphäre
- Lagerung nach Senkung der Wasseraktivität
- Lagerung nach Entfernung der Peroxidase-reichen Schale
- Lagerung bei verschiedenen Temperaturen
- Lagerung nach Aufbewahrung im eingefrorenen Zustand

Wegen der breiten Variabilität der Capsaicinoidkonzentration bei Einzelfrüchten waren diese ungeeignet, um Veränderungen im Schärfegehalt in Abhängigkeit von den Lagerbedingungen zu untersuchen. Um eine zuverlässige Bezugsgröße für den Zeitpunkt des Versuchsbeginns aufzustellen, wurden durch die Zerkleinerung der Früchte Mischungen von hinreichender Homogenität hergestellt. Die Analyse von Aliquoten stellte die Voraussetzung dar, um Veränderungen im Capsaicinoidgehalt während der Lagerung feststellen zu können.

Die folgenden Lagerstudien wurden mit gekauften, reifen Früchten durchgeführt, die, wenn nicht anders beschrieben, entsprechend Abbildung 21 aufgearbeitet wurden.



**Abbildung 21: Aufarbeitungsschema zur Lagerung von zerkleinertem Fruchtmaterial**

Die Früchte wurden zerkleinert (Moulinette) und möglichst homogen vermischt zusammengefügt. Von diesem Gemisch wurden Aliquote (10 g) gelagert, aufgearbeitet und die Capsaicinoidgehalte (Summe aus C, DC und NDC) bezogen auf den Anfangsgehalt des Gemisches per HPLC/Fluoreszenzdetektion bestimmt.<sup>60</sup>

Die Anzahl der einzuwiegenden Aliquote ( $n$ ) richtete sich nach der Anzahl der Lagertage und der Lagerbedingungen. Pro Lagertag und -bedingung wurde eine Dreifachbestimmung durchgeführt.

Aufgearbeitet wurde jeweils am Tag des Kaufes (Tag 0). Die Angabe der Capsaicinoidgehalte erfolgte jeweils als Prozentwert zum Referenzwert „Tag 0“, weil die Ausgangswerte in mg/kg je nach Kauf unterschiedlich waren. Aus allen Referenzwerten „Tag 0“ ließ sich eine Präzision der Aufarbeitung/Analytik mit einem Variationskoeffizienten von 7,5 % berechnen.

Die Lagerung der Proben für die einzelnen Messzeitpunkte erfolgte in offenen Probengefäßen, die meistens in Exsiccatoren – als abgeschlossenem System – untergebracht wurden, um Trocknungsverluste durch die Raumluft zu vermeiden oder zu minimieren.

In den Studien mit Vorbehandlung (Kapitel 2.2.7 bis 2.2.10) dienten frische Früchte aus dem gleichen Einkauf, die keiner Vorbehandlung unterzogen wurden, als Vergleichswerte. Sie wurden ebenfalls in einer Dreifachbestimmung pro Lagertag untersucht.

### 2.2.2 Lagerung von 2 cm-Stücken

Chili wird häufig getrocknet bei der Essenszubereitung eingesetzt. Getrocknet werden sie als ganze Schoten sowie vermahlen zu Flocken oder Pulver verkauft.<sup>13</sup> Obwohl ein Markt für ganze, getrocknete Früchte besteht, werden die meisten Früchte zu Gewürzen verarbeitet. Hierbei werden die intakten oder teilweise zerkleinerten Paprikafrüchte, die im Vergleich zu ganzen Früchten schneller trocknen, zunächst nach der Nachreifung und nach dem Waschen vorzerkleinert und mit verschiedenen Methoden (Sonnentrocknung, Bandtrocknung) auf einen Wassergehalt von 4-8 % getrocknet, um erst bei Bedarf in den Paprikamühlen zu Paprikapulver weiter verarbeitet zu werden.<sup>38, 144, 145</sup> Nach dem Mahlen wird das Pulver rehydriert bis zu dem für eine Lagerung optimalen Wassergehalt von 8-11%, was einem  $a_W$ -Wert von 0,56 entspricht.<sup>38, 146</sup>

In einer vorhergehenden Studie durch *Kirschbaum*<sup>60</sup> zur Klärung, ob der Capsaicinoidabbau nur bei Verletzung der Zellstruktur durch die Herstellung einer Fruchtpülpe zustande kommt oder auch in unzerkleinerten Früchten stattfindet, wurden Früchte halbiert. Fruchthälften, die nur entlang des Schnittes und somit nur an einem kleinen Teil der Frucht beschädigt werden, wurden als Modell für intakte, ganze Früchte betrachtet. Die Längshalbierung der Früchte wurde so vorgenommen, dass

beide Hälften möglichst symmetrisch hinsichtlich der Scheidewände und des Samenbesatzes vorlagen. Gemessen als Schwankungsbreite der Analysenergebnisse wiesen die Fruchthälften eine hinreichend gute Übereinstimmung im Capsaicinoidgehalt zwischen den korrespondierenden Hälftenpartien A und B auf, wenn Fruchthälften aus 5-10 Früchten gepoolt wurden. Wegen der Unterschiede im Absolutgehalt an Scharfstoffen zwischen den einzelnen Pools aus 5-10 Früchten wurden für die Auswertung der Untersuchungsreihe die Veränderungen im Capsaicinoidgehalt in der Mischung B nicht absolut, sondern relativ zur Referenzmischung A berechnet. Der Capsaicinoidgehalt blieb in dieser Studie, in der Hälften unzerkleinert gelagert wurden, stabil. Eine zweite Studie, in der Hälften (Referenzmischung A) parallel zur Fruchtpülpe (Mischung B) gelagert wurden, belegte, dass der Capsaicinoidabbau erst durch den Zerkleinerungsprozess ausgelöst wird.

In der nachfolgend beschriebenen Lagerstudie während des Sommers 2002 wurden intakte Fruchthälften (Mischung A) mit 2 cm großen Fruchtstücken (Mischung B) verglichen, um zu überprüfen, ob es durch diese Zerstückelung der Früchte zu einem Abbau der Scharfstoffe kommt. Um trotz der Heterogenität im Capsaicinoidgehalt von Einzelfrüchten sowie grob zerkleinerten Material Werte vergleichen zu können, wurden – in Anlehnung an *Kirschbaums* Methode – für die als Dreifachbestimmung angesetzte Untersuchungsreihe für die sechs Messzeitpunkte je fünf Früchte längs und hinsichtlich der Scheidewände und des Samenbesatzes möglichst symmetrisch halbiert (Gesamtzahl  $n = 90$ ). Die „Mischung A“ zugeteilten Mischungen à 5 Hälften wurden ohne weitere Behandlung auf Petrischalen am Fenster (Südseite) in der Sonne gelagert. Die jeweils zugehörigen Hälftenmischungen der „Mischung B“ wurden mit dem Skalpell in 2 cm große Stücke zerkleinert und unter denselben Bedingungen wie die intakten Hälften gelagert. Das Aufarbeitungsschema ist in Abbildung 22 wiedergegeben.

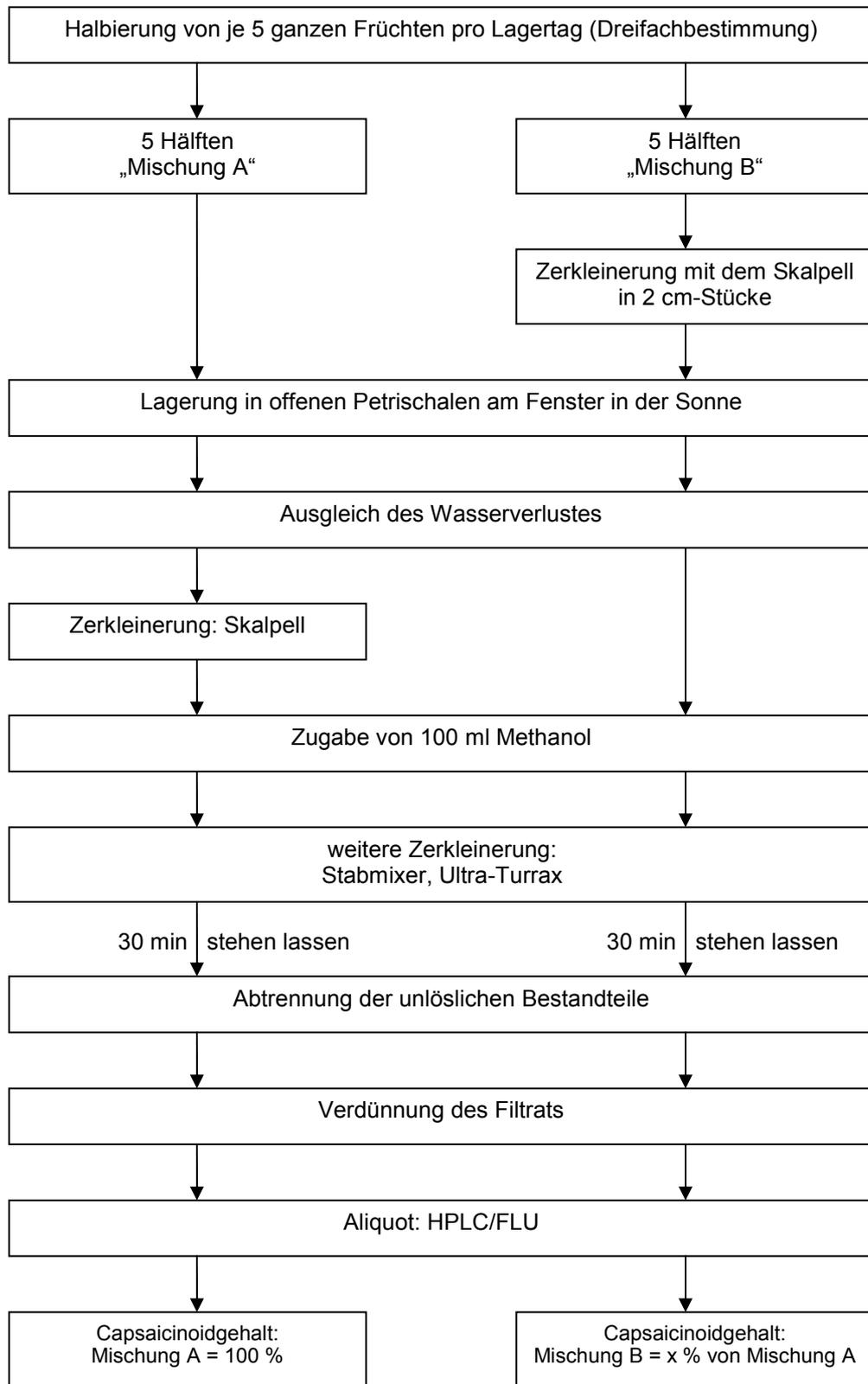


Abbildung 22: Aufarbeitungsschema für die Lagerung von 2 cm-Stücken

Wegen der Unterschiede im Absolutgehalt an Capsaicinoiden zwischen den einzelnen Hälftenmischungen aus fünf Früchten wurde für die Auswertung der

Lagerstudie der Capsaicinoidgehalt der Mischung B nicht absolut, sondern relativ zur Referenzmischung A berechnet. Der Capsaicinoidgehalt des zerkleinerten Materials (Mischung B) wurde auf den Gehalt der zugehörigen Fruchthälften (Mischung A), deren Capsaicinoidgehalt jeweils als stabil bleibender Referenzwert gleich 100 % gesetzt wurde, bezogen.<sup>60</sup> Die in Abbildung 23 gezeigten Messpunkte geben somit die gegenüber den halbierten Früchten relativen Werte für den Capsaicinoidgehalt in den 2 cm-Stücken wieder.

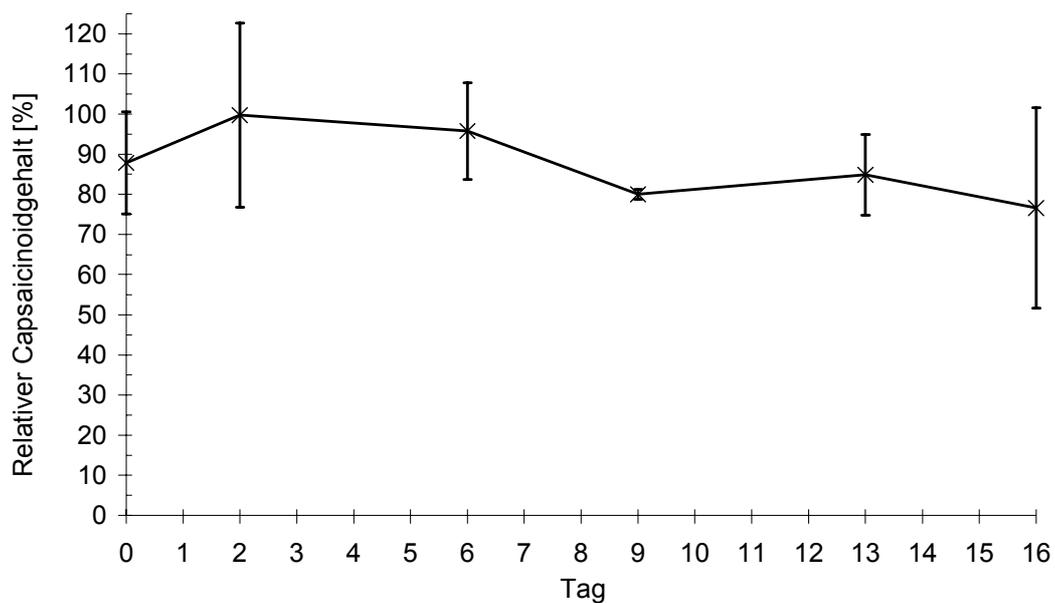


Abbildung 23: Lagerung von 2 cm großen Fruchtstücken (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3)

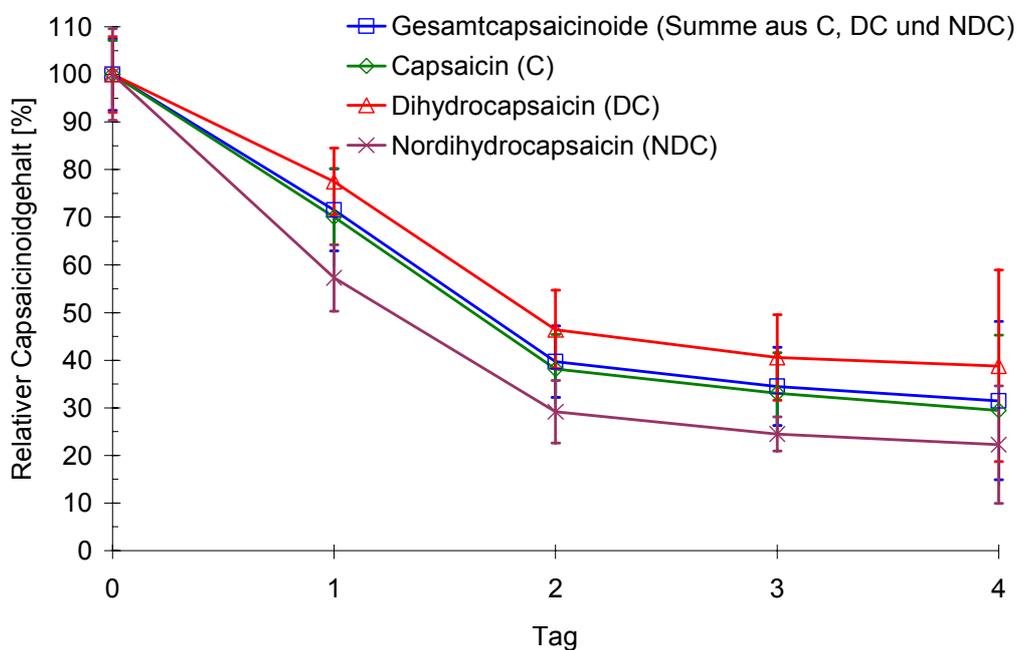
Eine Abnahme des Capsaicinoidgehaltes konnte bei diesem Zerkleinerungsgrad nicht festgestellt werden. Hieraus ist ersichtlich, dass erst bei vollständiger Zerstörung des Fruchtgewebes Scharfstoffverluste auftreten. Die vergleichsweise große Streuung der Messwerte in diesem Lagerungsexperiment lässt sich damit erklären, dass die bezüglich Scheidewänden und Samenbesatz exakte Halbierung der großen Zahl von 90 Früchten manuell schwierig ist und somit zwangsläufig zu einer niedrigeren Präzision führt.

### 2.2.3 Capsaicinoidmuster während der Lagerung

Nach vollständiger Zerkleinerung von Gewürzpaprikafrüchten werden die Capsaicinoide abgebaut. Aufgrund der vermuteten Beteiligung von Enzymen besteht die

Möglichkeit, dass der Capsaicinoidabbau aufgrund der hohen Substratspezifität von Enzymen <sup>147</sup> unter Verschiebung des ursprünglichen Capsaicinoidmusters abläuft.

400 g gekaufte, frische Früchte wurden entsprechend Abbildung 21 (Kapitel 2.2.1, Seite 51) aufgearbeitet. Die in Bechergläser eingewogenen Aliquots wurden unter Sauerstoff und bei Raumtemperatur gelagert, aufgearbeitet und die Scharfstoffgehalte gemessen. Der relative Gehalt für Capsaicin, Dihydrocapsaicin, Nordihydrocapsaicin und die Gesamtcapsaicinoide während der Lagerung des zerkleinerten Fruchtmaterials ist in Abbildung 24 dargestellt.



**Abbildung 24: Abnahme des Capsaicinoidgehaltes in zerkleinertem Fruchtmaterial unter Beibehaltung des Capsaicinoidmusters (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3)**

Capsaicin und Dihydrocapsaicin nehmen im gleichen prozentualen Verhältnis zueinander ab, d.h. dass der Capsaicinoidabbau unter Beibehaltung des Capsaicinoidmusters erfolgt.

Da die Einzelcapsaicinoide in gleicher Weise prozentual abgebaut werden wie die Summe aus den drei Hauptcapsaicinoiden, besteht die Möglichkeit, eine Lagerstudie nur über Capsaicin und/oder Dihydrocapsaicin auszuwerten, wenn Nordihydrocapsaicin, dessen Anteil im Capsaicinoidmuster 10-20 % beträgt, bei einem starken Scharfstoffabbau in einen Konzentrationsbereich sinkt, der unterhalb der Kalibriergerade liegt (Kapitel 2.2.6). In Abbildung 25 ist ein Chromatogramm wiedergegeben,

in dem die Konzentration des Nordihydrocapsaicin unterhalb des Kalibrierbereiches lag. Das bedeutete, dass die Signalhöhe weniger als 2 000  $\mu\text{V}$  betrug.

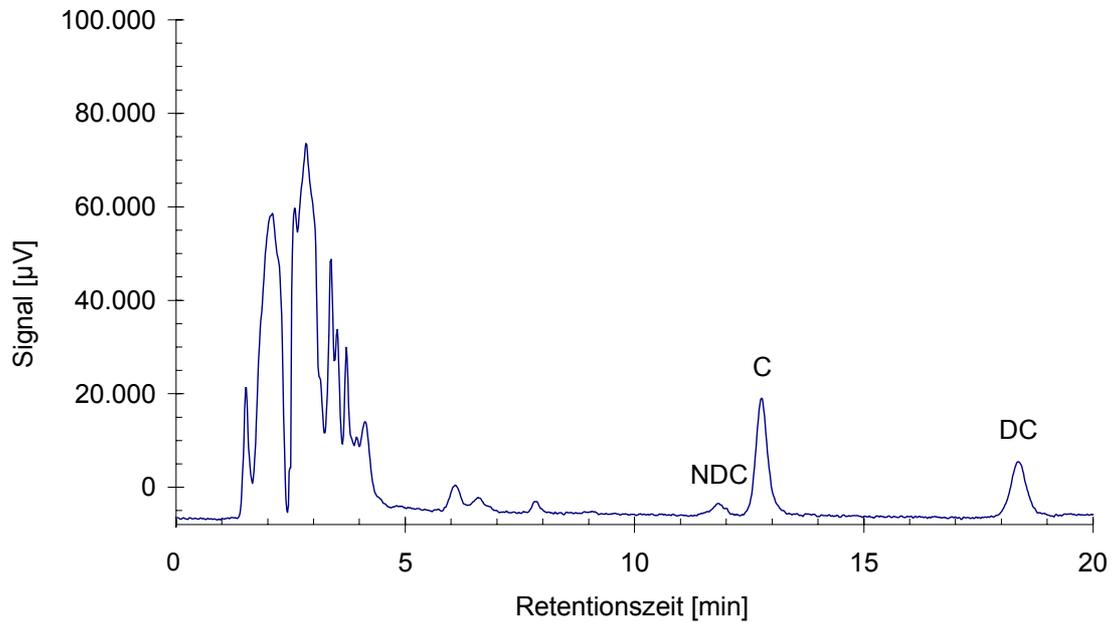


Abbildung 25: Beispielchromatogramm: NDC-Konzentration unterhalb des Kalibrierbereiches

Auch im Fall von chromatographischen Interferenzen, z. B. der Abbauprodukte, mit einem der drei Hauptcapsaicinoide (Abbildung 26) ist die Auswertung einer Untersuchungsreihe über die anderen beiden Hauptcapsaicinoide möglich.

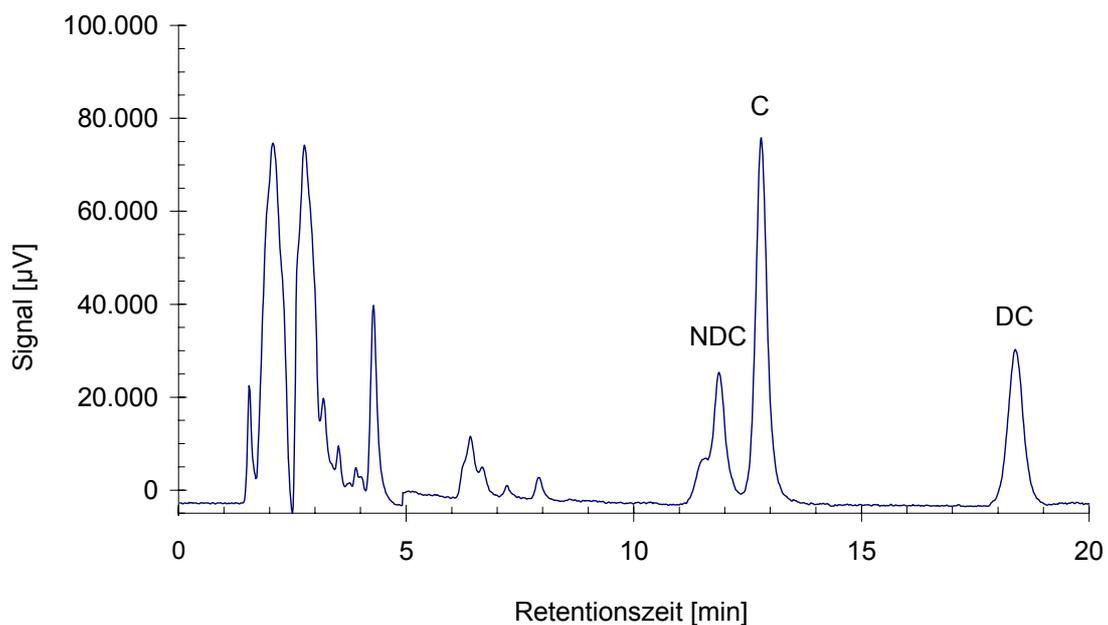


Abbildung 26: Beispielchromatogramm: Interferenzen zwischen NDC und Abbauprodukt(en)

Zum Vergleich ist in Abbildung 27 ein Chromatogramm ohne Interferenzen dargestellt. Die Hauptcapsaicinoide lagen in einer Konzentration innerhalb des Kalibrierbereiches vor.

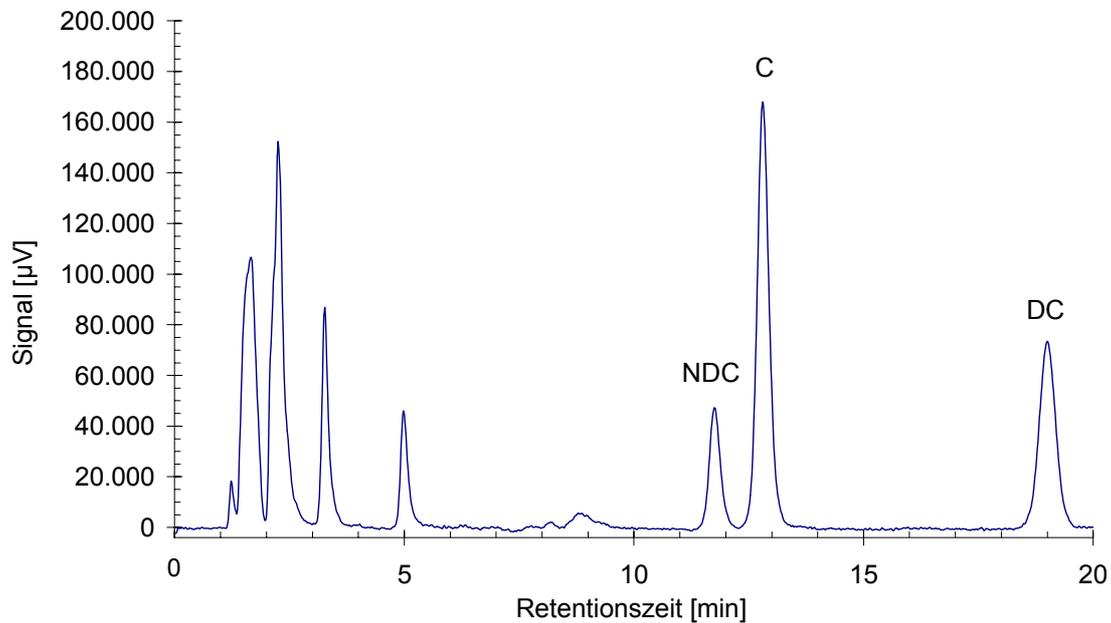


Abbildung 27: Beispielchromatogramm der Hauptcapsaicinoide mit Konzentrationen innerhalb des Kalibrierbereiches und ohne Interferenzen

### 2.2.4 Lagerung mit 0,3 mmolarer Wasserstoffperoxidlösung

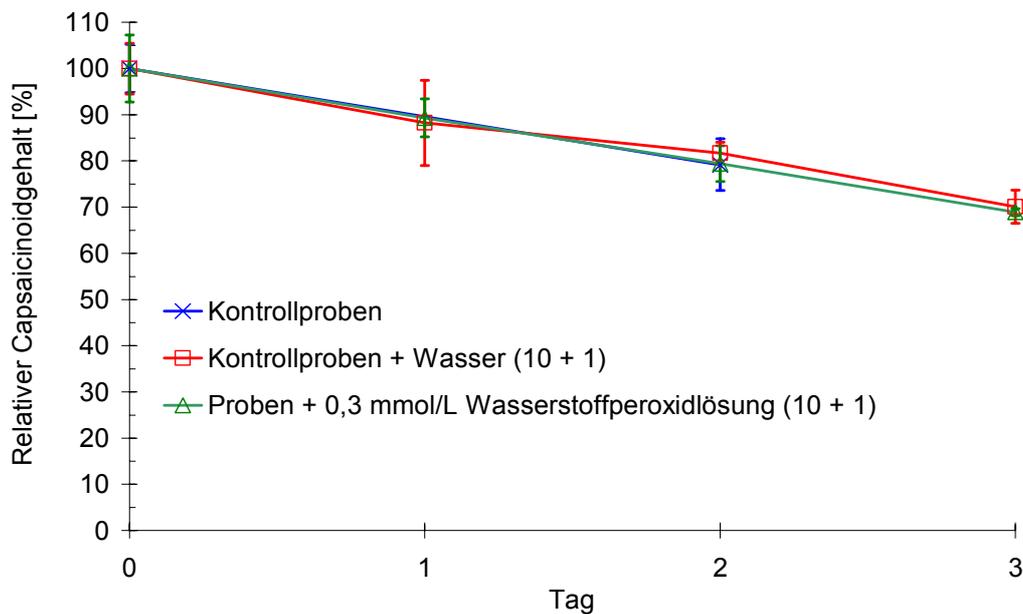
Peroxidasen benötigen Wasserstoffperoxid als Cosubstrat. Um zu untersuchen, ob die Anwesenheit von  $H_2O_2$  den Capsaicinoidabbau beeinflusst, sollte frisches Fruchtmaterial in einer  $H_2O_2$ -Lösung in *Capsicum*-typischer Konzentration<sup>98</sup> aufgenommen werden und mit Fruchtmaterial, das mit der entsprechenden Menge Wasser „verdünnt“ worden waren, verglichen werden.

Frische Früchte eines Einkaufs (1 kg) wurden in drei Gruppen eingeteilt.

- 1.) 200 g der Früchte wurden unter Zugabe von 20 ml 0,3 mmol Wasserstoffperoxid-Lösung mit der Moulinette zerkleinert.
- 2.) 200 g der Früchte wurden unter Zugabe von 20 ml destilliertem Wasser mit der Moulinette zerkleinert.
- 3.) Als Vergleichswerte dienten 200 g Früchte, die ohne Zusatz von Wasser oder Lösungen zerkleinert wurden.

Das zerkleinerte Fruchtmaterial wurde jeweils möglichst homogen vermischst zusammengefügt und in Aliquoten à 10 g bei Raumtemperatur gelagert. Nach der Lagerung wurden die Proben aufgearbeitet und die Capsaicinoidgehalte bezogen auf den Anfangsgehalt des Gemisches per HPLC/Fluoreszenzdetektion bestimmt.

In Abbildung 28 sind die relativen Capsaicinoidgehalte während der Lagerung dargestellt.



**Abbildung 28: Lagerung mit 0,3 mmolarer Wasserstoffperoxidlösung (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3)**

Unter allen drei Bedingungen wurde ein gleich starker Capsaicinoidabbau ermittelt. In frischem Fruchtmaterial zeigte die Zugabe von Wasserstoffperoxid bis zum dritten Tag keine Effekte und war somit weder notwendig noch schädlich hinsichtlich des Capsaicinoidabbaus.

Weitere Untersuchungen zum Abbau in oxidativen Lösungen konnten nicht durchgeführt werden, weil die Proben bereits nach einem Tag Lagerung verschimmelt waren. Aus diesem Grund wurde eine neue Strategie (Kapitel 2.2.5) verfolgt, um die Abhängigkeit des Abbauprozesses von einer oxidativen Umgebung zu überprüfen.

2.2.5 Lagerung unter Stickstoff und Sauerstoff

Wasserstoffperoxid, das Peroxidasen als Cosubstrat benötigen, wird durch Enzyme oder Enzymsysteme zur Verfügung gestellt, die Sauerstoff zu Wasserstoffperoxid reduzieren können. Eine Umgebung, die keinen Sauerstoff enthält, führt dazu, dass kein Wasserstoffperoxid produziert werden kann und somit das Cosubstrat für Peroxidasen fehlt.<sup>144</sup>

500 g Früchte wurden nach Zerkleinerung und Homogenisierung in einer Umgebung mit Sauerstoff und ohne Sauerstoff gelagert. Diese Bedingung wurde mit Hilfe von Exsiccatoren geschaffen, die mit Sauerstoff oder Stickstoff befüllt wurden. Außerdem wurde auch der Einfluss der Temperatur berücksichtigt, indem sowohl für die Sauerstoff- als auch für die Stickstoffatmosphäre jeweils ein Exsiccator im Kühlschrank (4 °C) untergebracht und ein weiterer Exsiccator auf der Laborbank (25 °C) abgestellt wurde. Von diesen vier Modellen stellt die Lagerung bei Raumtemperatur unter Sauerstoffatmosphäre die Positivbedingung für die Arbeit von Peroxidasen dar. In den anderen drei Fällen sollen entweder der mangelnde Sauerstoff und/oder die niedrige Temperatur die eventuelle Peroxidaseaktivität einschränken.

Abbildung 29 gibt den relativen Capsaicinoidgehalt während der Lagerung wieder.

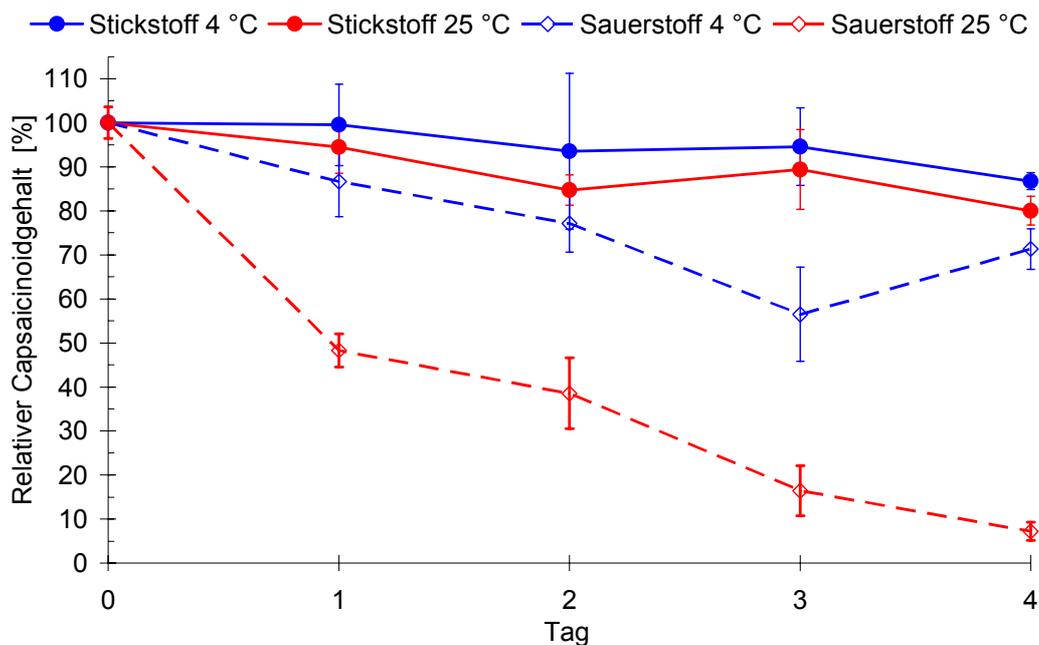


Abbildung 29: Lagerung von zerkleinertem Fruchtmaterial unter Sauerstoff und Stickstoff bei Kühlschrank- und Raumtemperatur (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3)

Der Capsaicinoidgehalt fällt während der Lagerung unter reinem Sauerstoff bei Raumtemperatur (25 °C) innerhalb weniger Tage auf einen Wert von 0-10 % des Anfangsgehaltes ab. Bei Kühlschranktemperatur (4 °C) erfolgt die Abnahme wesentlich langsamer. Unter Stickstofflagerung blieb der Capsaicinoidgehalt weitgehend stabil.

### 2.2.6 Lagerung bei eingestellter Luftfeuchte

Die Wasseraktivität ( $a_w$ ) ist ein wichtiger Faktor für die Haltbarkeit von Lebensmitteln. Der Einfluss der Wasseraktivität auf Prozesse, die für die Qualität von Lebensmitteln von zentraler Bedeutung sind, erstreckt sich auf das Wachstum von Mikroorganismen, die enzymatisch katalysierten Reaktionen, die nicht-enzymatische Bräunung und die Autoxidation der Lipide.

Enzyme müssen, um aktiv zu sein, zumindest teilweise von einer Hydrathülle umgeben sein. Dies erfordert einen  $a_w$ -Wert größer als 0,4. Da mit zunehmender Wasseraktivität auch der Stofftransport erleichtert wird, finden Enzyme und Substrate besser zueinander und enzymatische Prozesse werden zusätzlich erhöht.<sup>144</sup>

Da die Einstellung eines definierten  $a_w$ -Wertes im vorliegenden Probenmaterial jedoch nicht möglich ist, kann nur das Klima über der Probe während der Lagerung beeinflusst werden. Hierfür eignen sich Klimakammern, z. B. Exsiccatoren, in denen die relative Luftfeuchte (U) mit Hilfe von gesättigten Salzlösungen eingestellt werden kann. Diese Methode beruht auf der Einstellung eines Gleichgewichtszustandes bei einer bestimmten Temperatur, bei dem der Partialdruck des Wasserdampfes in der Luft dem über der gesättigten Salzlösung entspricht. Dieser Partialdruck ist dann geringer als der über reinem Wasser.

Zur Untersuchung der Scharfstoffstabilität in zerkleinertem Fruchtmaterial bei unterschiedlicher Luftfeuchte wurden drei Messreihen mit Luftfeuchten von 12 %, 52 % und 98 % durchgeführt. Die Messreihe bei U = 98 % stellte die Vergleichsgrundlage für die anderen beiden Messreihen dar, weil der natürliche  $a_w$ -Wert von Gewürz-paprikafrüchten 0,98 beträgt und somit durch eine Lagerung bei einer Luftfeuchte von 98 % keine Trocknungseffekte zu erwarten waren.

Innerhalb jeder Messreihe wurden die Proben darüber hinaus bei verschiedenen Temperaturen und in unterschiedlicher Atmosphäre gelagert:

- 1.) Sauerstoffatmosphäre bei Raumtemperatur (25 °C),
- 2.) Sauerstoffatmosphäre bei Kühlschranktemperatur (4 °C) und
- 3.) Stickstoffatmosphäre bei Raumtemperatur (25 °C).

Die unterschiedlichen Lagerbedingungen wurden mit Hilfe von Exsiccatoren eingestellt, in denen die Proben 7-10 Tage gelagert wurden. Benötigt wurden für eine Dreifachbestimmung (3 n) pro Temperatur/ Atmosphäre (3 n), pro Lagertag (10 n) und pro Luftfeuchte (3 n) 270 Aliquots á 10 g. Für den Fall, dass Aliquots über die lange Lagerzeit von zehn Tagen schimmeln könnten, wurden für jede Lagerbedingung drei Zusatzproben eingewogen und unter den entsprechenden Bedingungen gelagert.

Von den neun beschriebenen Modellen stellte die Lagerung bei Raumtemperatur unter Sauerstoffatmosphäre und bei 98 % Luftfeuchte die Positivbedingung für die Arbeit von Peroxidasen dar. In den anderen acht Fällen sollten entweder der mangelnde Sauerstoff, die niedrige Temperatur und/oder Trocknungseffekte die eventuelle Peroxidaseaktivität einschränken.

Wie hoch die erzielten Trocknungseffekte von Proben waren, die bei Raumtemperatur gelagert wurden, ist in Abbildung 30 dargestellt.

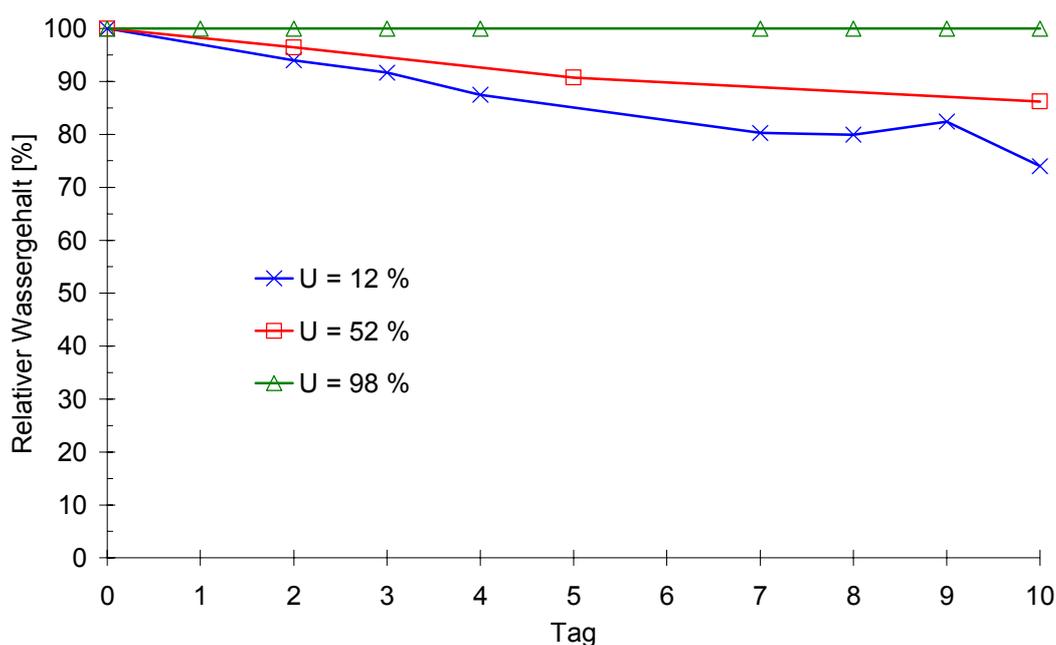


Abbildung 30: Wasserverluste während der Lagerung bei Raumtemperatur

Die Proben wiesen nach zehntägiger Lagerung folgende Trocknungseffekte auf:

- 12 % Luftfeuchte: 26 % Wasserverlust,
- 52 % Luftfeuchte: 14 % Wasserverlust,
- 98 % Luftfeuchte: kein Wasserverlust.

Proben, die im Kühlschrank bei den drei Luftfeuchten gelagert wurden, wiesen nach zehn Tagen geringere Trocknungseffekte auf:

- 12 % Luftfeuchte: 12 % Wasserverlust,
- 54 % Luftfeuchte: 7 % Wasserverlust,
- 98 % Luftfeuchte: kein Wasserverlust.

Abbildung 31 beschreibt den relativen Capsaicinoidabbau in zerkleinertem Fruchtmaterial, das bei einer relativen Luftfeuchte von 98 % unter Sauerstoff bei Raumtemperatur, unter Sauerstoff im Kühlschrank und unter Stickstoff bei Raumtemperatur gelagert wurde.

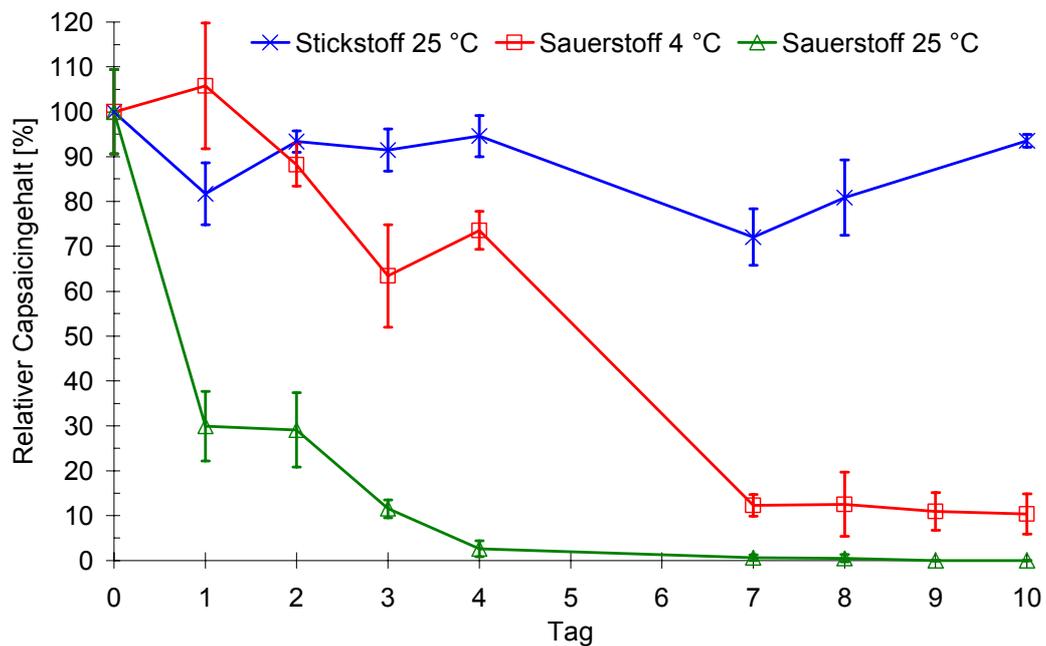
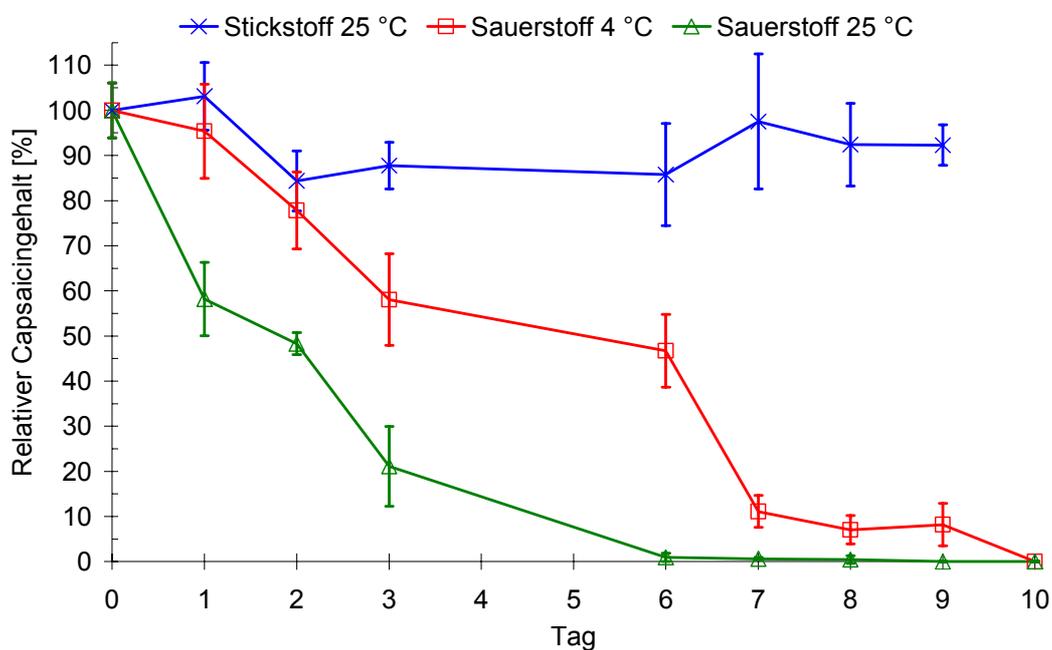


Abbildung 31: Lagerung von zerkleinertem Fruchtmaterial unter Sauerstoff und Stickstoff bei Kühlschrank- und Raumtemperatur, jeweils bei 98 % Luftfeuchte (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3)

Der Capsaicinoidgehalt nahm unter Sauerstoff bei Raumtemperatur schnell ab. Mit zeitlicher Verzögerung fiel auch der Capsaicinoidgehalt der Proben unter Sauerstoff im Kühlschrank stark. Bei den bei Raumtemperatur unter Stickstoff aufbewahrten

Proben ist kein kontinuierlicher Abbau zu erkennen. Die Schwankungen unterhalb der 100 % können auf den restlichen Sauerstoff im Fruchtgewebe und die unvermeidbare Einwirkung von Luftsauerstoff auf das zerkleinerte Fruchtmaterial zwischen Zerkleinerung und Einlagerung zurückgeführt werden.

Abbildung 32 beschreibt den relativen Capsaicinoidabbau in zerkleinertem Fruchtmaterial, das bei einer relativen Luftfeuchte von 52 % (20 °C) und 54 % (4°C) unter Sauerstoff bei Raumtemperatur, unter Sauerstoff im Kühlschrank und unter Stickstoff bei Raumtemperatur gelagert wurde.

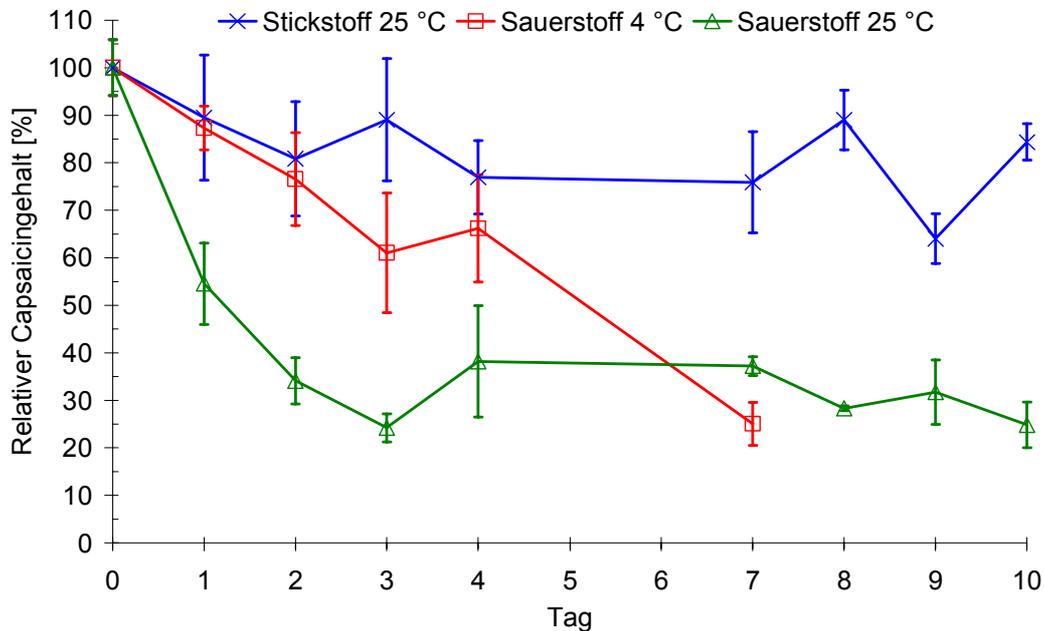


**Abbildung 32: Lagerung von zerkleinertem Fruchtmaterial unter Sauerstoff und Stickstoff bei Kühlschrank- und Raumtemperatur, bei 52 bzw. 54 % Luftfeuchte (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3)**

Der Capsaicinoidgehalt nahm unter Sauerstoff bei Raumtemperatur nicht ganz so schnell ab wie bei 98 % Luftfeuchte. Mit zeitlicher Verzögerung aber nicht ganz so zügig wie bei 98 % Luftfeuchte fiel auch der Capsaicinoidgehalt der Proben unter Sauerstoff im Kühlschrank. Bei den bei Raumtemperatur unter Stickstoff aufbewahrten Proben ist erneut kein kontinuierlicher Abbau zu erkennen.

Abbildung 33 beschreibt den relativen Capsaicinoidabbau in zerkleinertem Fruchtmaterial, das bei einer relativen Luftfeuchte von 12 % unter Sauerstoff bei Raumtem-

peratur, unter Sauerstoff im Kühlschrank und unter Stickstoff bei Raumtemperatur gelagert wurde.



**Abbildung 33:** Lagerung von zerkleinertem Fruchtmaterial unter Sauerstoff und Stickstoff bei Kühlschrank- und Raumtemperatur, jeweils bei 12 % Luftfeuchte (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3)

Auch bei 12 % Luftfeuchte ist bei den unter Stickstoff bei Raumtemperatur aufbewahrten Proben erneut unter Berücksichtigung der Schwankungsbreite kein Abbau zu erkennen. Der Capsaicinoidgehalt der Proben unter Sauerstoff im Kühlschrank fiel vergleichbar schnell wie bei 54 % Luftfeuchte. Der Capsaicinoidgehalt nahm unter Sauerstoff bei Raumtemperatur bis zum dritten Tag ungefähr so schnell ab wie bei 52 % Luftfeuchte. Danach wurden die Capsaicinoide nicht weiter abgebaut.

### 2.2.7 Lagerung nach Gefriertrocknung

Selbst bei geringster Luftfeuchte, die bei Raumtemperatur zu ca. 30 % Trocknungsverlust führte, wurde entsprechend der Überprüfung mit dem  $a_w$ -Wert-Messgerät keine deutliche Absenkung des  $a_w$ -Wertes erreicht. Ein weiteres Experiment zeigte, dass sogar nach über 50 % Trocknungsverlust noch eine Wasseraktivität von 0,95 besteht. Weil die Einstellung eines niedrigen  $a_w$ -Wertes mittels gesättigter Salzlösun-

gen ausgeschöpft worden war (Kapitel 2.2.6), wurde die Gefriertrocknung gewählt, um die Wasseraktivität im Probenmaterial zu senken.

Mit der Gefriertrocknung wird gefrorenem Material Wasser entzogen. Die Trocknung erfolgt dabei unter Umgehung des flüssigen Aggregatzustandes durch Sublimation; d.h. direkte Überführung von Eis in Dampf. Dies geschieht unter Vakuum, wobei in dem eingebrachten Gut Temperaturen tiefer  $-10\text{ °C}$  herrschen.<sup>148</sup>

Die zu untersuchenden Zellen werden z. B. durch Eintauchen in flüssigen Stickstoff ( $-196\text{ °C}$ ) schnell eingefroren und sofort für längere Zeit (24 h) in ein Hochvakuum überführt. Dabei sublimiert das Eis langsam und damit schonend. Bei diesem Prozess fallen enzymatische, bakterielle und chemische Veränderungen weitgehend aus. Zurück bleibt das trockene Pflanzengewebe, in dem die Stoffwechsel- und Enzymprozesse aufgrund des Wasserentzugs zum Stillstand kommen.<sup>149</sup>

Die Gefriertrocknung gilt als das schonendste Verfahren zur Konservierung der biologischen Eigenschaften empfindlicher Gewebe und Gewebebestandteile. Mit diesem Verfahren lassen sich lebende Zellen von Pflanzen und Mikroorganismen durch Zusatz von Nährlösung auch nach Jahrzehnten erneut zur Teilung anregen.<sup>148</sup>

Das Ziel der Gefriertrocknung ist, ein Produkt zu erhalten, das nach Hinzufügen von Wasser die Eigenschaften des Ausgangsgutes möglichst unverändert aufweist. Da die Trocknung im gefrorenen Zustand bei sehr niedrigen Temperaturen erfolgt, gelingt es, z. B. Eiweiße unter Erhalt der Wasserlöslichkeit zu trocknen. Auch die meisten übrigen chemischen Verbindungen bleiben qualitativ und quantitativ unverändert.<sup>148</sup>

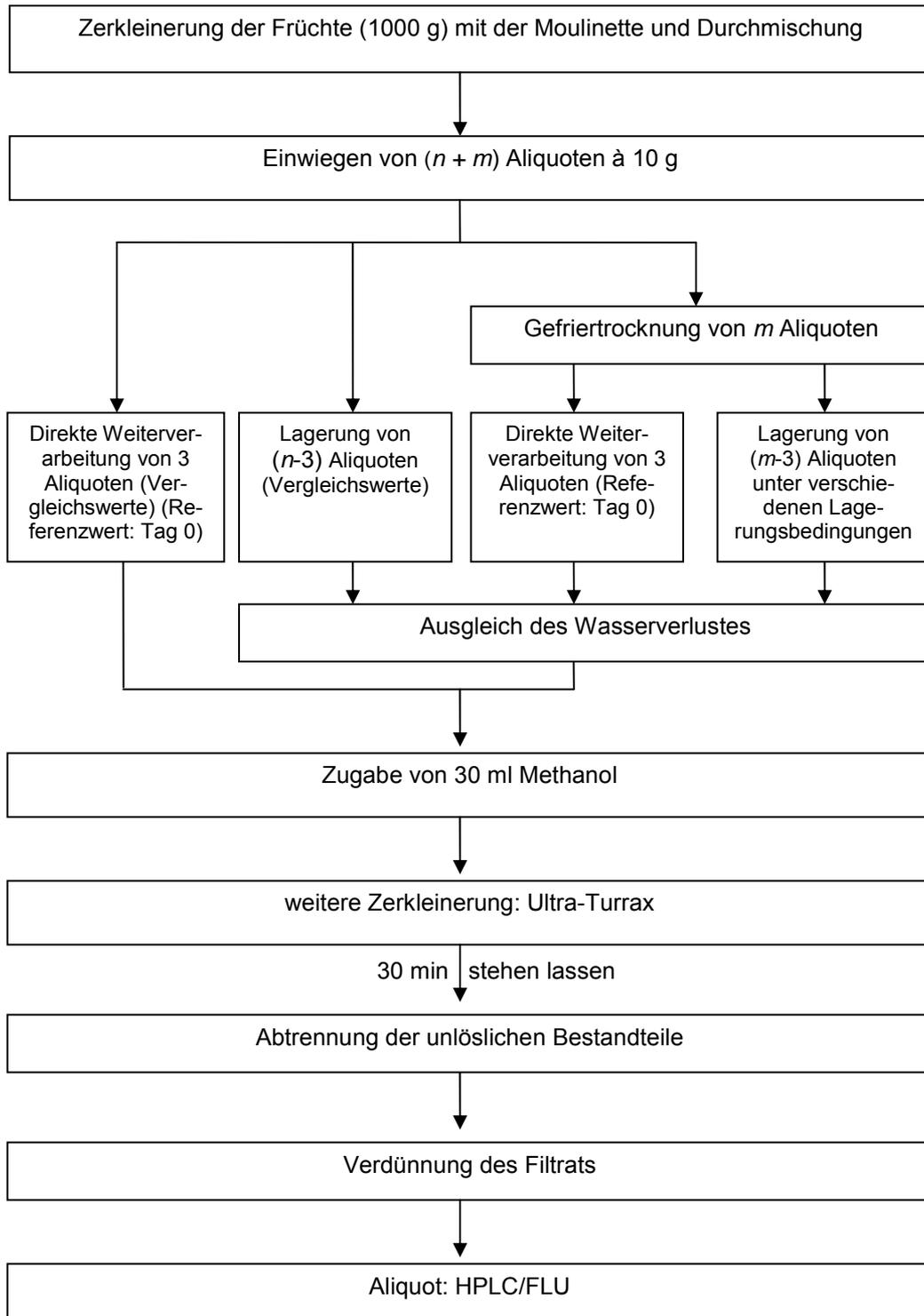
Im Fall von Lebensmitteln lassen sich mit dem Ziel der Haltbarmachung durch die Gefriertrocknung niedrige Wasseraktivitätswerte erzielen. Abnehmende Wasseraktivität bremst das Wachstum von Mikroorganismen, die enzymatisch katalysierten Reaktionen und die nicht-enzymatische Bräunung.

Da die Beteiligung von Enzymen am Capsaicinoidabbau vermutet wurde, sollte in der folgenden Untersuchung überprüft werden, ob in zerkleinertem, gefriergetrocknetem Fruchtmaterial Capsaicinoide trotz der geringen Wasseraktivität während der Lagerung abgebaut werden. Es konnte hierbei nicht ausgeschlossen werden, dass die  $\text{H}_2\text{O}_2$ -liefernden Enzyme oder Enzymsysteme durch die Gefriertrocknung geschädigt werden oder aufgrund der niedrigen Wasseraktivität inaktiv sind. Somit musste Wasserstoffperoxid, das während der Gefriertrocknung entzogen wird, bei

der Lagerung möglicherweise zur Verfügung gestellt werden. Die Bereitstellung von  $\text{H}_2\text{O}_2$  in für *Capsicum*-Früchte typischer Konzentration<sup>98, 99, 101</sup> sollte verhindern, dass die Peroxidasen allein wegen des fehlenden Cosubstrats die Capsaicinoide nicht umsetzen. In einem vorangegangenen Experiment (Kapitel 2.2.4) war bereits beobachtet worden, dass bis zu einer Konzentration von 0,3 mmol/L keine Zellschäden auftreten. Mit einer 0,1 mmolaren  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung wurde eine Konzentration gewählt, wie sie von *Bernal et al.*<sup>99, 101</sup> sowie *Contreras-Padilla und Yahia*<sup>46</sup> als günstig ermittelt worden war.

Die nach der Zerkleinerung und Durchmischung in 50 ml-Zentrifugenröhrchen aus Polypropylen eingewogenen Aliquots à 10 g wurden zunächst in flüssigem Stickstoff schnell tiefgefroren und danach 23 Stunden lyophilisiert. Der Wasserverlust betrug nach der Gefriertrocknung je nach Messreihe 82-89 %.

In Abbildung 34 ist das Aufarbeitungsschema für die Gefriertrocknung und Lagerung von zerkleinertem Fruchtmaterial wiedergegeben. Die Anzahl der einzuwiegenden Aliquote ( $n + m$ ) richtete sich nach der Anzahl der Lagertage und der Lagerbedingungen. Pro Lagertag und -bedingung wurde eine Dreifachbestimmung durchgeführt.



**Abbildung 34: Aufarbeitungsschema für die Lagerung von zerkleinertem Fruchtmaterial nach Gefriertrocknung**

Mit vier Einkäufen wurden vier Untersuchungsreihen (GT 1 - GT 4) durchgeführt. Unter Berücksichtigung der Schwankungsbreite der Messwerte wurden keine Capsaicinoidverluste aufgrund der Gefriertrocknung festgestellt (Tabelle 3).

Untersuchungsreihe	Capsaicinoidgehalt [mg/kg]	
	vor der Gefriertrocknung	nach der Gefriertrocknung
GT 1	72	86
GT 2	482	463
GT 3	18	14
GT 4	48	54

Tabelle 3: Capsaicinoidgehalte vor und nach der Gefriertrocknung (Dreifachbestimmung)

GT 1: Die Wasseraktivität  $a_w$  war auf einen Wert unterhalb von 0,4 gesunken. Da das  $a_w$ -Wert-Messgerät in diesem Bereich keine Skalierung aufwies, musste eine geringe Menge Wasser hinzugefügt werden, um in den skalierten Bereich zu gelangen und für alle Proben den gleichen  $a_w$ -Wert einstellen zu können. Die Wassermenge musste sehr gering sein, weil bei niedrigen Wassergehalten (< 50 %) kleine Änderungen dieses Parameters starke Veränderungen in der Wasseraktivität zur Folge haben.<sup>144</sup> Somit wurden zu jedem Aliquot 200-300 µl Wasser pipettiert, um in jeder Probe eine Wasseraktivität von 0,66 einzustellen. Dieser Wert wurde mit der ersten Probe, in der der  $a_w$ -Wert eingestellt worden war, festgelegt.

GT 2: Die Einstellung des  $a_w$ -Wertes 0,66 erfolgte durch Zugabe von 200-300 µl 0,1 mmolarer Wasserstoffperoxidlösung, um  $H_2O_2$  in *Capsicum*-typischer Konzentration bereitzustellen.

GT 3: Der gesamte Wasserverlust durch die Gefriertrocknung wurde durch Zugabe von Wasser vollständig ausgeglichen.

GT 4: Der gesamte Wasserverlust durch die Gefriertrocknung wurde durch Zugabe von 0,1 mmolarer Wasserstoffperoxidlösung vollständig ausgeglichen.

Die Aliquote (10 g) wurden bei Raumtemperatur in Bechergläsern gelagert, aufgearbeitet und die Capsaicinoide per HPLC/Fluoreszenzdetektion bestimmt.

Als Vergleichswerte dienten  $n$  Aliquots à 10 g, die in Bechergläser eingewogen, nicht gefriergetrocknet und bei Raumtemperatur im nicht evakuierten Exsiccator gelagert wurden.

Während der vier Untersuchungsreihen wurden die Capsaicinoide in den dazugehörigen Vergleichsproben abgebaut. In den vier Lagerstudien sanken die

Capsaicinoidgehalte der Kontrollproben innerhalb von vier Tagen bezogen auf den Ausgangsgehalt entsprechend Tabelle 4.

Untersuchungsreihe	Capsaicinoidgehalt [%] nach 4 Tagen
GT 1	68
GT 2	16
GT 3	16
GT 4	21

Tabelle 4: Relative Capsaicinoidgehalte der nicht gefriergetrockneten Kontrollproben

In Abbildung 35 sind die relativen Capsaicinoidgehalte während der verschiedenen Lagerungsbedingungen von gefriergetrocknetem, zerkleinertem Fruchtmaterial aufgeführt.

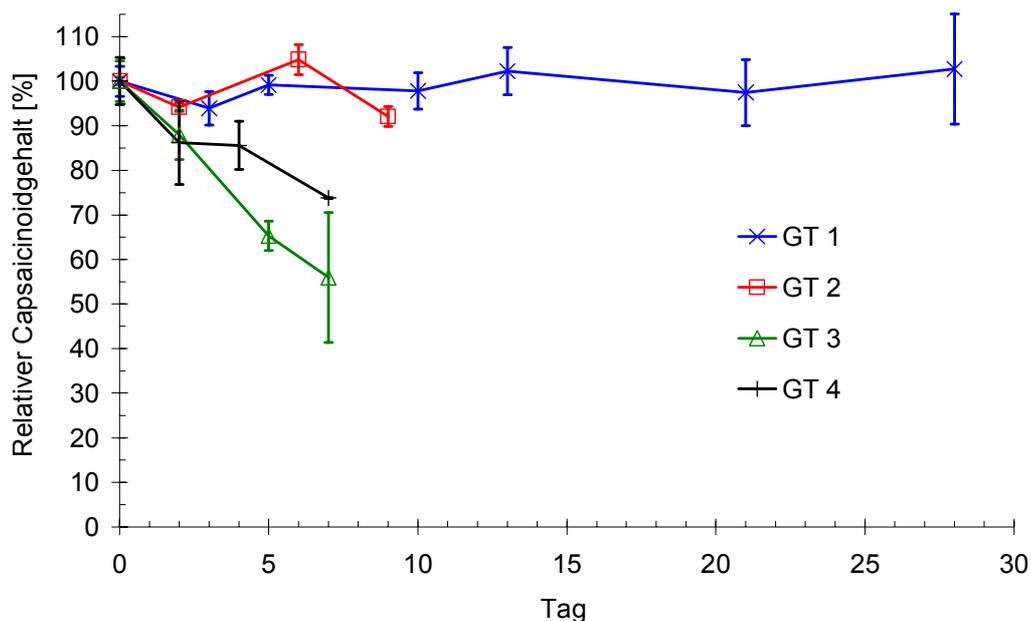


Abbildung 35: Lagerung von gefriergetrocknetem, zerkleinertem Fruchtmaterial unter verschiedenen Lagerungsbedingungen (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3)

- GT 1: Zugabe von 200-300 µl Wasser zur Einstellung der Wasseraktivität 0,66
- GT 2: Zugabe von 200-300 µl 0,1 mmolarer Wasserstoffperoxidlösung zur Einstellung der Wasseraktivität 0,66 und zur Bereitstellung von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in physiologischer Konzentration
- GT 3: vollständiger Ausgleich des Trocknungsverlustes durch Zugabe von Wasser
- GT 4: vollständiger Ausgleich des Trocknungsverlustes durch Zugabe von 0,1 mmolarer Wasserstoffperoxidlösung

Da die vier Untersuchungsreihen mit vier Einkäufen durchgeführt wurden, waren die Anfangsschärfegehalte der Proben (Tabelle 3) und auch die Abbauintensitäten der

Kontrollwerte (Tabelle 4) unterschiedlich. Weiterhin war die Herkunft und Geschichte von gekauften Früchten unbekannt. Aus diesen Gründen sollte die Auswertung qualitativ und nicht quantitativ erfolgen.

In den Proben mit dem niedrigen  $a_w$ -Wert von 0,66 konnte sowohl mit als auch ohne bereitgestelltes Wasserstoffperoxid kein Capsaicinoidabbau beobachtet werden. Im Gegensatz dazu nahm der Capsaicinoidgehalt in den Proben ab, deren Wassergehalt nach der Gefriertrocknung wieder hergestellt worden war.

### 2.2.8 Lagerung geschälter Früchte

Peroxidasen kommen als Isoenzyme in verschiedenen Zellkompartimenten vor, auch in der Plazenta, dem Biosyntheseort der Capsaicinoide, insbesondere aber in der äußeren Fruchtschale. Sie katalysieren dort die Lignifizierung von Phenolen, um die Frucht vor Wasserverlust und mechanischer sowie mikrobieller Beschädigung zu schützen.<sup>22</sup>

Um zu überprüfen, ob diese Enzyme am Schärfeabbau von zerkleinerten Paprikafrüchten beteiligt sind, wurden aus einem Einkauf von Gewürzpaprikafrüchten zwei Gruppen gebildet.

- 1.) Die Fruchtschale von gekauften, frischen Früchten wurde mit einem Gemüseschäler entfernt. Die geschälten Früchte wurden zerkleinert (Moulinette) und zusammengefügt. Aliquote (10 g) wurden bei Raumtemperatur in Bechergläsern gelagert, aufgearbeitet und die Capsaicinoide per HPLC/Fluoreszenzdetektion bestimmt.
- 2.) Zum Vergleich dienten ungeschälte Früchte, ebenfalls zerkleinert, zusammengefügt und entsprechend gelagert.

In Abbildung 36 und Abbildung 37 sind die Ergebnisse von zwei Untersuchungsreihen aus zwei Einkäufen aufgeführt.

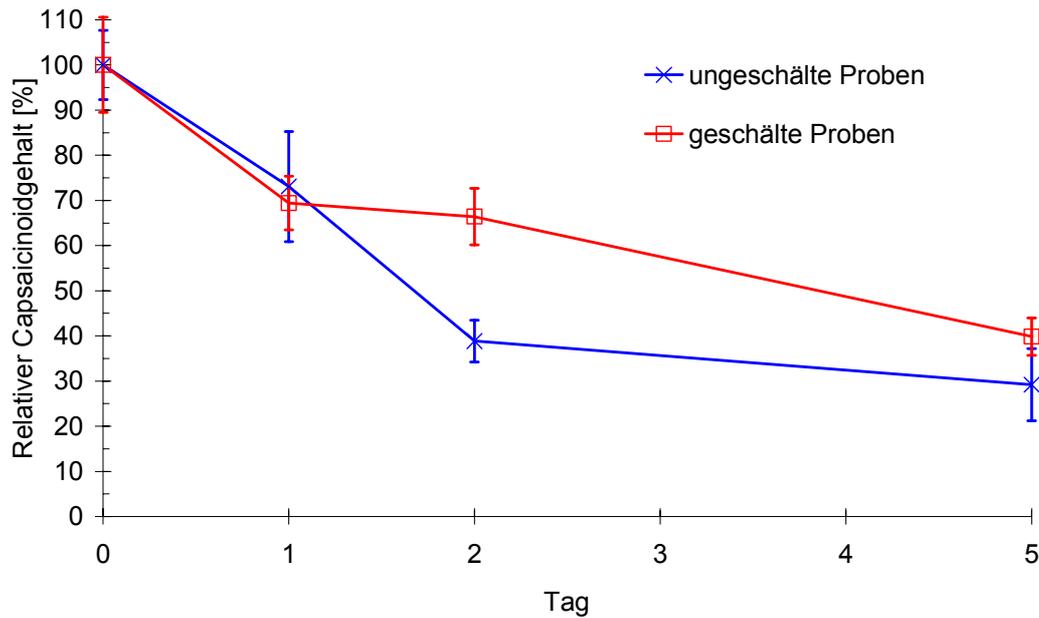


Abbildung 36: 1. Lagerung zerkleinerten Fruchtmaterials nach Entfernung der Schale (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3)

Der erste Tag der Messreihe 1 wies bei beiden Proben eine Abnahme auf 70 % auf. Am zweiten Tag war ein deutlich rascherer Abbau bei den ungeschälten Vergleichsproben zu sehen. Am fünften Tag waren die Capsaicinoide in den ungeschälten Vergleichsproben auf ca. 30 % und in den geschälten Proben auf ca. 40 % abgebaut worden. Die Standardabweichungen der Messpunkte für die geschälten und ungeschälten Proben überschneiden sich. Daher ist der Unterschied im Capsaicinoidgehalt am letzten Lagerungstag nicht statistisch signifikant.

In der zweiten Messreihe wurden zusätzlich zu den geschälten und ungeschälten Proben als weiterer Vergleich Früchte geschält und zerkleinert, die dabei erhaltenen Schalen separat zerkleinert und dann alles Material wieder zusammen sehr gut durchmischt. Aliquote wurden gelagert und die Capsaicinoide bestimmt.

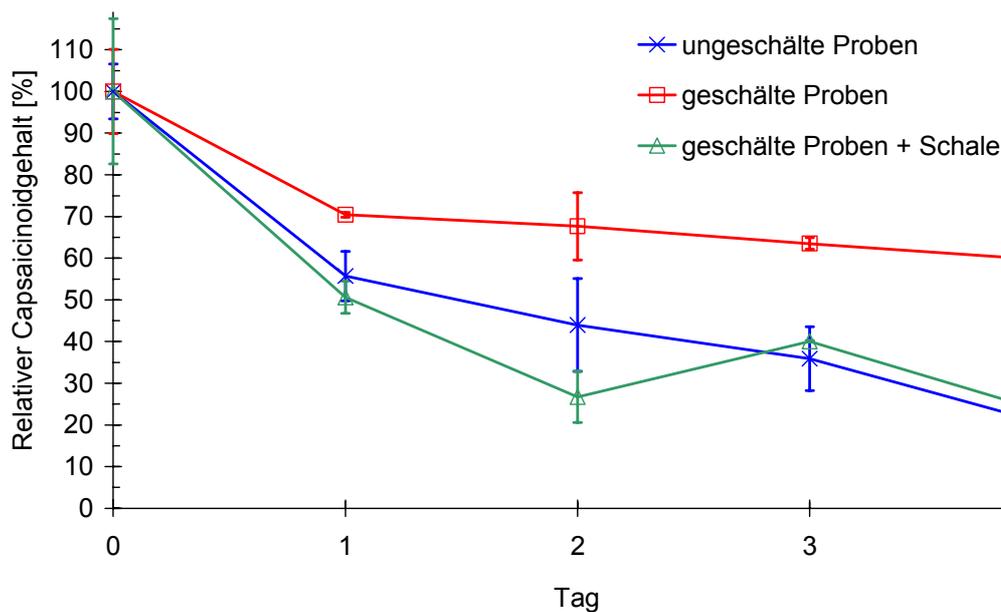


Abbildung 37: 2. Lagerung zerkleinerten Fruchtmaterials nach Entfernung der Schale (Mittelwert mit Standardabweichung,  $n = 3$ )

In Messreihe 2 wurden die Capsaicinoide in einem Zeitraum von vier Tagen wie folgt abgebaut:

- bei den ungeschälten Proben: auf ca. 20 %,
- bei den geschälten Proben: auf ca. 60 % und
- bei den geschälten Proben mit zugefügter Schale: auf ca. 20 %.

Die Messwerte der Kontrolle und der geschälten Proben mit zugefügter Schale zeigten unter Berücksichtigung der Standardabweichungen einen gemeinsamen Kurvenverlauf. Die stärker schwankenden Messwerte der Proben mit wieder zugefügter Schale können auf Schwierigkeiten bei der Homogenisierung zurückgeführt werden. Diese entstanden durch das Vermischen des geschälten Materials mit den zerkleinerten Schalen. Es war schwierig, das Verhältnis der Schale zum Fruchtfleisch identisch wieder herzustellen.

Abbildung 37 zeigt eine deutliche Abgrenzung der Messwerte der geschälten Proben. Nach Entfernung der Schale wurde ein schwächerer Schärfeabbau beobachtet. Somit waren die in der äußeren Fruchtschale vorkommenden Peroxidasen daran beteiligt.

Um sich die Unterschiede zwischen Messreihe 1 und 2, wie z. B. den unterschiedlich schnellen Schärfeabbau, zu erklären, muss berücksichtigt werden, dass in den beiden Messreihen Früchte aus zwei Chargen und demnach eventuell auch *Capsicum*-Früchte verschiedener Varietäten/Sorten oder unterschiedlichen Alters untersucht wurden.

Außerdem ist das nicht unproblematische Schälen zu beachten. Beim Schälen ließ es sich nicht vermeiden, dass auch etwas Fruchtfleisch oder Zwischenschicht entfernt wurde. Für Messreihe 1 war es gelungen, im Einzelhandel besonders große Früchte mit möglichst wenigen Vertiefungen im Fruchtfleisch zu finden, was das Schälen stark vereinfacht hat. In Messreihe 2 war es aufgrund der kleinen Früchte schwer, einzig die Schale zu entfernen. Bei den kleineren Früchten der Messreihe 2 ist davon auszugehen, dass mehr Fruchtfleisch mit der Schale entfernt wurde als bei den großen Früchten der Messreihe 1.

Gerade in Messreihe 2 ist der Effekt des Schälen auf den Capsaicinabbau aber sehr deutlich zu sehen. Dies würde bedeuten, dass auch im Fruchtfleisch direkt unter der Schale Peroxidasen lokalisiert sind, die sich am Schärfeabbau beteiligen.

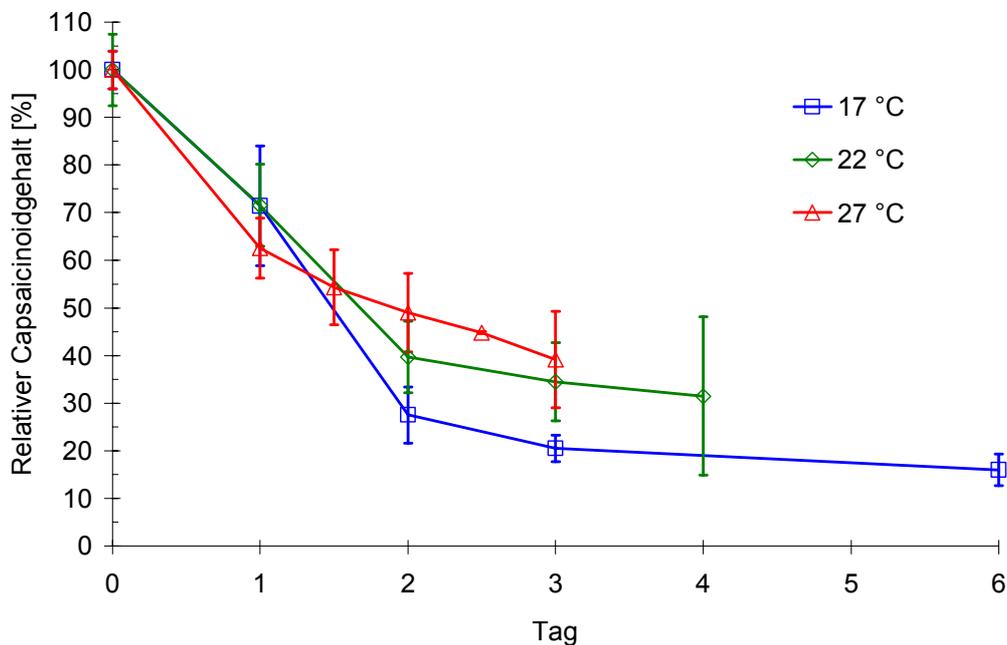
### 2.2.9 Lagerung bei verschiedenen Temperaturen

Die Temperatur ist ein wichtiger Parameter für die Aktivität von Enzymen, wobei schon vergleichsweise geringe Temperaturschwankungen von 5 °C entscheidend sein können.<sup>147</sup>

Um zu überprüfen, wie sich eine leichte Erhöhung und eine leichte Absenkung der Umgebungstemperatur auf den Abbau der Capsaicinoide auswirken, wurden frische Früchte aus einem Einkauf zerkleinert (Moulinette) und möglichst homogen vermischt zusammengefügt. Aliquote (10 g) dieses Gemisches wurden in Bechergläser eingewogen und für die Lagerung in drei Gruppen eingeteilt.

- 1.) Die Lagerung erfolgte in einem kühlen Raum bei  $17 \pm 1$  °C.
- 2.) Die Lagerung erfolgte in einem Wasserbad, das auf  $27 \pm 1$  °C eingestellt war. Um den Wasserverlust bei dieser Temperatur gering zu halten, wurden die Bechergläser mit Parafilm überzogen, in den ein kleines Loch gestochen worden war.
- 3.) Zum Vergleich dienten Früchte, die bei normaler Raumtemperatur des Labors ( $22 \pm 1$  °C) gelagert wurden.

Abbildung 38 gibt die relativen Capsaicinoidgehalte während der Lagerung bei den verschiedenen Temperaturen wieder.



**Abbildung 38: Lagerung von zerkleinertem Fruchtmaterial bei 17 °C, 22 °C und 27 °C (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3)**

Die Messwerte am ersten Tag wiesen alle den gleichen Abbau auf ca. 75 % auf. Am zweiten Tag war die Konzentration der Capsaicinoide in den 17 °C-Proben stark gesunken, während die bei 27 °C gelagerten Proben eine geringere Abnahme aufwiesen. Die 22 °C-Kontrollproben besaßen Capsaicinoidgehalte zwischen den bei 17 °C und 27 °C gelagerten Proben. Dieser Trend setzte sich auch am dritten Tag fort.

Die Lagerung bei 17 °C führte in sechs Tagen zu einer Abnahme der Capsaicinoide auf 16 %. Da die bei 17 °C und 27 °C gelagerten Proben eine hohe Standardabweichung aufweisen, ist kein statistisch signifikanter Unterschied zu erkennen.

Das bei den höheren Temperaturen gelagerte Fruchtmaterial fing an zu schimmeln und konnte nicht bis zum sechsten Tag untersucht werden. Die Proben über den dritten Tag hinaus bei 27 °C zu lagern, war aufgrund Verderbs nicht vertretbar. Die bei 22 °C gelagerten Vergleichsproben konnten vier Tage gelagert werden.

Die Lagerung der zerkleinerten Früchte bei 17 °C verursachte einen stärkeren Abbau der Capsaicinoide als bei 22 °C oder 27 °C. Die Messwerte des bei 22 °C oder 27 °C

gelagerten Fruchtmaterials weisen eine hohe Standardabweichung auf, so dass nicht auf einen unterschiedlichen Abbau der Capsaicinoide geschlossen werden kann.

### 2.2.10 Lagerung nach dem Einfrieren

Um den Einfluss des Fruchtalters auf den Capsaicinoidabbau zu untersuchen, müssen genügend Früchte zur Verfügung stehen, die zu unterschiedlichen Zeitpunkten geerntet wurden. Es sollte geprüft werden, ob Früchte zunächst eingefroren werden können und zu einem späteren Zeitpunkt aufgetaut, zerkleinert und der Lagerstudie zugeführt werden können.

Frische Früchte eines Einkaufs wurden in drei Gruppen eingeteilt.

- 1.) Die Früchte wurden in flüssigen Stickstoff getaucht und danach sofort wieder aufgetaut.
- 2.) Die Früchte wurden in flüssigen Stickstoff getaucht und 1 Woche bei  $-18\text{ °C}$  aufbewahrt.
- 3.) Als Vergleichswerte dienten frische, nicht tiefgefrorene Früchte.

Die Früchte der 1. und 2. Gruppe wurden im angetauten Zustand zerkleinert (Moulinette) und wie auch die Früchte der 3. Gruppe möglichst homogen vermischt zusammengefügt und in Aliquoten bei Raumtemperatur gelagert. Nach der Lagerung wurden die Proben aufgearbeitet und die Capsaicinoidgehalte bezogen auf den Anfangsgehalt des Gemisches per HPLC/Fluoreszenzdetektion bestimmt.

In Abbildung 39 sind die relativen Capsaicinoidgehalte während der Lagerung dargestellt.

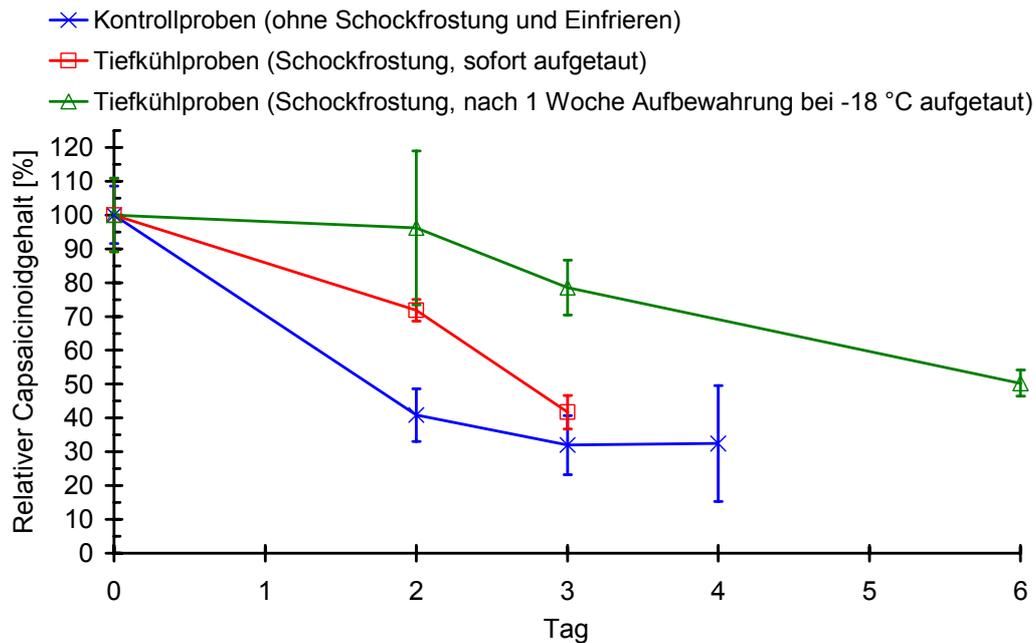


Abbildung 39: Lagerung von zerkleinertem Fruchtmaterial bei Raumtemperatur nach dem vorherigen Einfrieren (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3)

Bereits am zweiten Lagertag war die geringere Schärfeabnahme der zunächst tiefgefrorenen Proben deutlich von den Vergleichswerten (Kontrollproben) unterscheidbar.

Die Vergleichswerte wiesen nach drei Tagen 30-34 % des Anfangsschärfegehaltes auf. Damit vergleichbar sank der Schärfegehalt der tiefgefrorenen und anschließend sofort wieder aufgetauten Früchte auf ca. 40 % des Anfangsgehaltes.

Die eine Woche im Tiefkühlschrank aufbewahrten Früchte zeigten nach Auftauen, Zerkleinern und Lagerung bei Raumtemperatur eine deutliche zeitliche Abba verzögerung. Nach drei Tagen wurden noch Capsaicinoidgehalte von 75-80 % des Anfangswertes gefunden; nach sechs Tagen waren noch 50 % des Anfangsschärfegehaltes vorhanden.

Das Schockfrostern und Lagern der Früchte bei -18 °C führte dazu, dass während des nachfolgenden Lagerns des homogenisierten Fruchtmaterials bei Raumtemperatur ein geringerer Capsaicinoidabbau beobachtet wurde.

In diesen Lagerstudien können unterschiedlich lang bei -18 °C aufbewahrte Früchte also nicht untereinander oder mit frischen Früchten verglichen werden.

### 2.2.11 Peroxidasetest

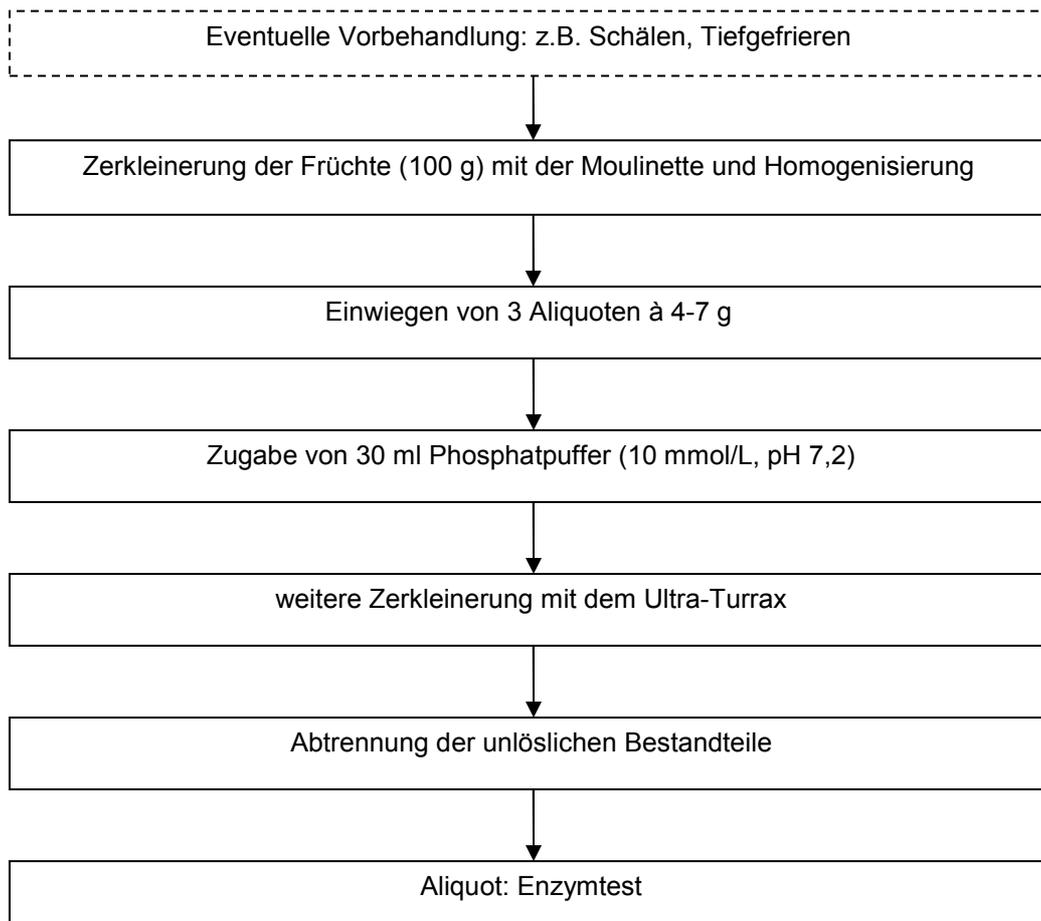
In den vorstehend beschriebenen Untersuchungsreihen wurde – je nach Vorbehandlung und Lagerbedingung – ein unterschiedlicher Abbau im Capsaicinoidgehalt von zerkleinertem Fruchtmaterial beobachtet. Da die Beteiligung von Enzymen, insbesondere Peroxidasen, am Capsaicinoidabbau vermutet wird, sollte die unterschiedliche Aktivität der Peroxidasen abhängig von der Vorbehandlung untersucht werden.

Dazu wurden gekaufte Früchte mit der Voraussetzung, dass alle Isoenzyme der Peroxidase genauso wie die Meerrettichperoxidase reagieren, in einem Farbtest hinsichtlich ihrer Gesamtperoxidaseaktivität untersucht.

*Contreras-Padilla und Yahia*<sup>46</sup>, die die Peroxidaseaktivität während der Fruchtentwicklung und -reife bestimmten, verwendeten hingegen für ihre Untersuchungen den Aceton-unlöslichen Rückstand aus lyophilisiertem Material, den sie in Tris-Puffer (pH 6,0) lösten und dem sie die Substrate Capsaicin und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> zufügten.

Die Arbeitsgruppe um *Bernal* verwendete wiederum entweder Früchte<sup>88</sup> oder Material aus dem Aceton-unlöslichen Rückstand<sup>98-101</sup>. Gelöst wurde das jeweils tiefgefrorene Untersuchungsgut in Tris-Puffer (pH 7,2 oder 7,5). Die Substrate Capsaicin, Dihydrocapsaicin und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> wurden zugesetzt.

Abbildung 40 beschreibt die Aufarbeitungsschritte für die Proben vor dem Enzymfarbtest.



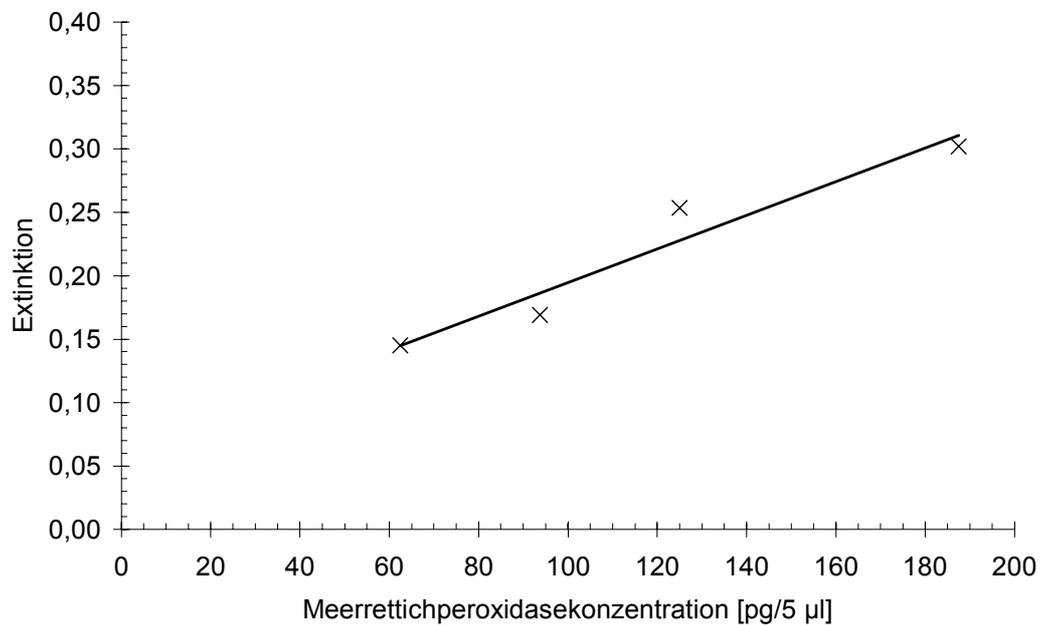
**Abbildung 40: Aufarbeitungsschema für den Peroxidasefarbtest**

In einer Mikrotiterplatte mit 96 Kavitäten wurden 5 µl der erhaltenen Probenlösung in Citratpuffer (210 mmol/L, pH 4) aufgenommen. Dieser enthielt als Substrat Tetramethylbenzidin und als Cosubstrat Wasserstoffperoxid in einer Konzentration von 0,315 mmol/L, was einer *Capsicum*-typischen Konzentration entspricht. Die enzymatische Reaktion wurde nach 5,0 Minuten mit 1-molarer Salzsäure gestoppt.

Die Auswertung erfolgte photometrisch bei 450 nm über das im Sauren gelb gefärbte Oxidationsprodukt des Tetramethylbenzidin. Der Extinktionswert war umso höher, je mehr Substrat innerhalb der fünf Minuten umgesetzt worden war. Aufgrund der definierten, begrenzten Reaktionszeit und des Substratüberschusses wurde davon ausgegangen, dass die Konzentration des gebildeten Farbstoffes von der Gesamtperoxidasekonzentration in der Probe abhängt.

Parallel wurde eine Kalibriergerade mit Meerrettichperoxidase-Standardlösungen aufgenommen, von denen ebenfalls 5 µl eingesetzt wurden. Auch hier wurde die Re-

aktion in Citratpuffer mit Tetramethylbenzidin und Wasserstoffperoxid (0,315 mmol/L) nach 5,0 Minuten abgebrochen. Abbildung 41 gibt eine der Kalibriergeraden wieder.



**Abbildung 41: Kalibriergerade mit Meerrettichperoxidase**

In Abbildung 42 sind die Enzymkonzentrationen bezogen auf 100 g Probe (linke y-Achse) sowie die relativen Enzymkonzentrationen bezogen auf die Konzentration in frischen, unbehandelten Früchten (rechte y-Achse) aufgeführt.

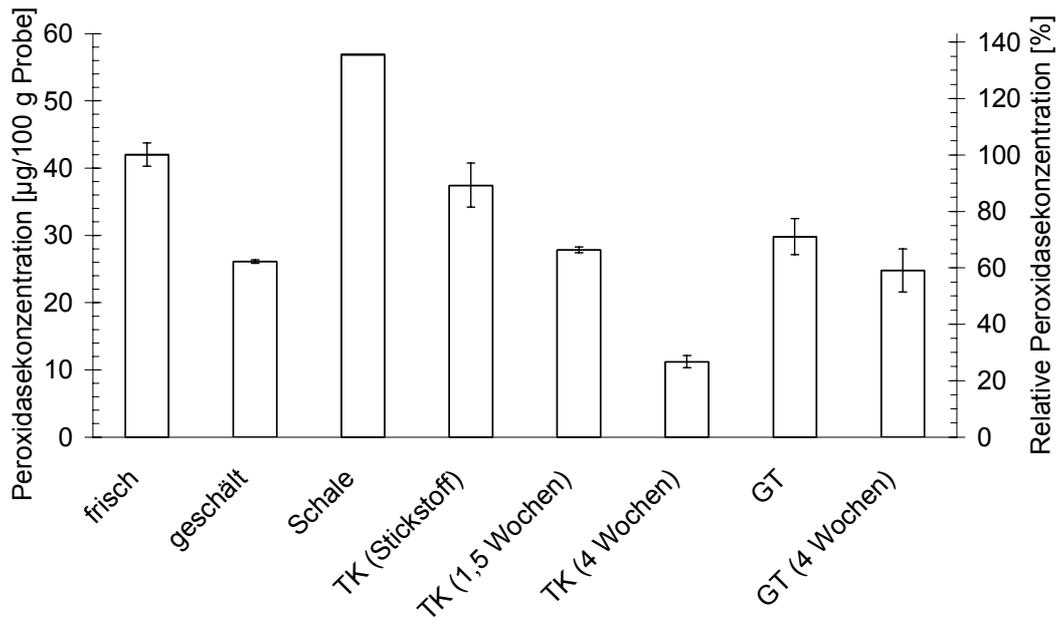


Abbildung 42: Peroxidasebestimmung in *Capsicum*-Fruchtmaterial nach unterschiedlicher Vorbehandlung (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 2)

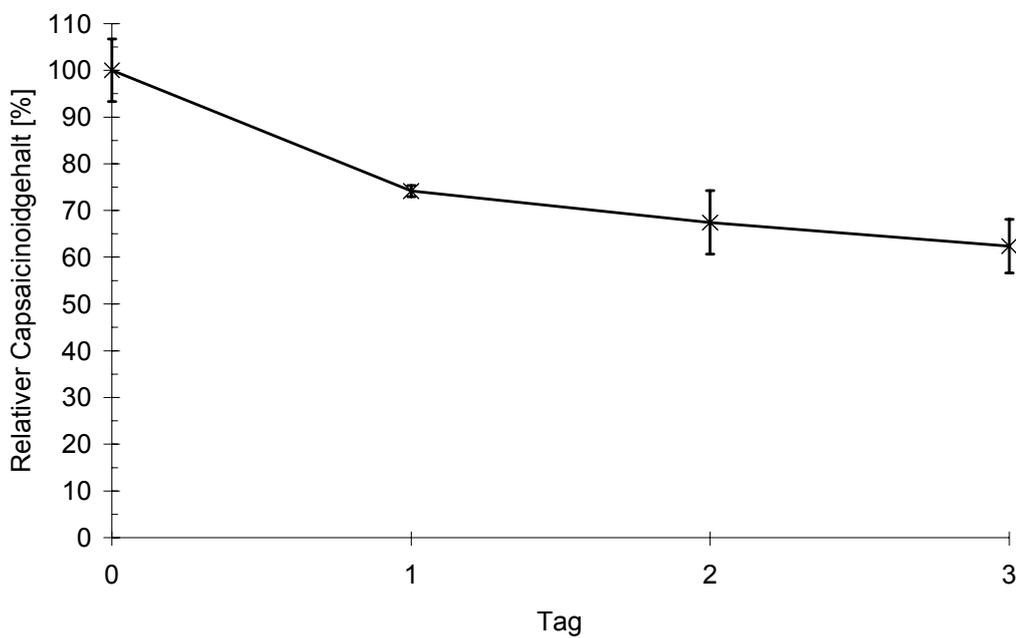
- |                       |   |
|-----------------------|---|
| <b>frisch:</b>        | <b>frische Früchte</b>  |
| <b>geschält:</b>      | <b>geschälte Früchte</b>  |
| <b>Schale:</b>        | <b>Fruchtschale</b>   |
| <b>TK Stickstoff:</b> | <b>in Stickstoff getauchte und sofort wieder aufgetaute Früchte</b>                                 |
| <b>TK 1,5 Wochen:</b> | <b>1 ½ Wochen bei -18 °C gelagerte Früchte</b>  |
| <b>TK 4 Wochen:</b>   | <b>4 Wochen bei -18 °C gelagerte Früchte</b>  |
| <b>GT:</b>            | <b>gefriergetrocknete und in Wasser aufgenommene Früchte</b>  |
| <b>GT 4 Wochen:</b>   | <b>gefriergetrocknete, 4 Wochen bei Raumtemperatur gelagerte und in Wasser aufgenommene Früchte</b> |

Die höchste Gesamtperoxidasekonzentration wurde in der Schale bestimmt. Die frischen sowie die in Stickstoff getauchten und sofort wieder aufgetauten Früchte wiesen nach der Schale die höchste Gesamtperoxidasekonzentration auf. Vorbehandlungen wie eine 1½-wöchige Lagerung bei -18 °C oder die Gefrier-trocknung minderten die Konzentration um 30-35 %. In gefriergetrocknetem Material von zerkleinerten Früchten, die im Anschluss vier Wochen bei Raumtemperatur gelagert worden waren, wurde eine etwas geringere Konzentration ermittelt als in denen ohne die anschließende Lagerung. Die geringste Konzentration bestand in Früchten, die vier Wochen bei -18 °C aufbewahrt worden waren.

Die geschälten Früchte wiesen durch die Entfernung der Peroxidase-reichen Schale eine entsprechend geringere Konzentration auf. Der Mittelwert der Peroxidase-konzentrationen in den geschälten Früchten und der Schale entspricht der Konzentration in den frischen Früchten.

Zur Kontrolle, dass in den untersuchten Früchten nach Zerkleinerung ein Capsaicinoidabbau stattfindet, wurden von der verwendeten Einkaufscharge 200 g Früchte am Tag des Einkaufs, mit der Moulinette zerkleinert und möglichst homogen vermischt zusammengefügt. Aliquote (10 g) wurden in Bechergläsern bei Raumtemperatur gelagert, aufgearbeitet und die Capsaicinoide per HPLC/Fluoreszenzdetektion bestimmt.

In Abbildung 43 sind die relativen Capsaicinoidgehalte für die Kontrolllagerung von zerkleinertem Fruchtmaterial dargestellt.



**Abbildung 43: Peroxidasetest: Kontrolllagerung von zerkleinertem Fruchtmaterial (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3)**

Bei den im Peroxidasetest eingesetzten Früchten handelt es sich um Fruchtmaterial, in dem ein Capsaicinoidabbau stattfindet.

### 2.3 Abnahme des Capsaicinoidgehaltes nach Zerkleinerung und Lagerung von Gewürzpaprikafrüchten unterschiedlichen Alters

*Contreras-Padilla und Yahia* <sup>46</sup> bestimmten parallel zum Capsaicinoidgehalt auch die Peroxidaseaktivität während der Fruchtentwicklung und -reife. Sie beobachteten, dass die Peroxidaseaktivität mit zunehmender Fruchtreife ansteigt und am 50.-60. Tag nach der Blüte ihr Maximum erreicht.

Mit der Annahme, dass Peroxidasen am Capsaicinoidabbau in zerkleinerten Früchten beteiligt sind, müsste der Abbau nach Zerkleinerung und Lagerung von Früchten einer Altersstufe umso stärker sein, je älter die zu untersuchenden Früchte sind.

Um den Einfluss des Fruchtalters auf den Capsaicinoidabbau zu untersuchen, wurde von März bis September 2003 im Gewächshaus Gewürzpaprika (20 Pflanzen) angepflanzt. Die Samen wurden einer einzelnen roten Frucht aus dem Einzelhandel entnommen, da sie größer als die Früchte der Sibirischen Hauspaprika war, die 2001 und 2002 untersucht worden waren. Durch die Ernte von großen Früchten sollte die große Menge des für die Lagerstudien benötigten Fruchtmaterials schneller bereitgestellt werden.

Die Blühphase setzte nach 2-3 Monaten ein und dauerte drei Monate. Der Tag der Blütenöffnung wurde an jeder einzelnen Blüte vermerkt, so dass beim Ernten der Früchte das Alter der jeweiligen Frucht berechnet werden konnte.

Für die Untersuchung wurden für jede Altersstufe 150-200 g geerntet. Danach wurden die Früchte entsprechend Abbildung 21 (Kapitel 2.2.1, Seite 51) sofort zerkleinert (Moulinette) und möglichst homogen vermischt zusammengefügt. Von diesem Gemisch wurden Aliquote (10 g) gelagert, aufgearbeitet und die Capsaicinoidgehalte (Summe aus C, DC und NDC) bezogen auf den Anfangsgehalt des Gemisches per HPLC/Fluoreszenzdetektion bestimmt.

In Abbildung 44 sind die relativen Capsaicinoidgehalte während der Lagerung von 18, 24, 34, 41 und 50 Tage altem, zerkleinertem Fruchtmaterial dargestellt.

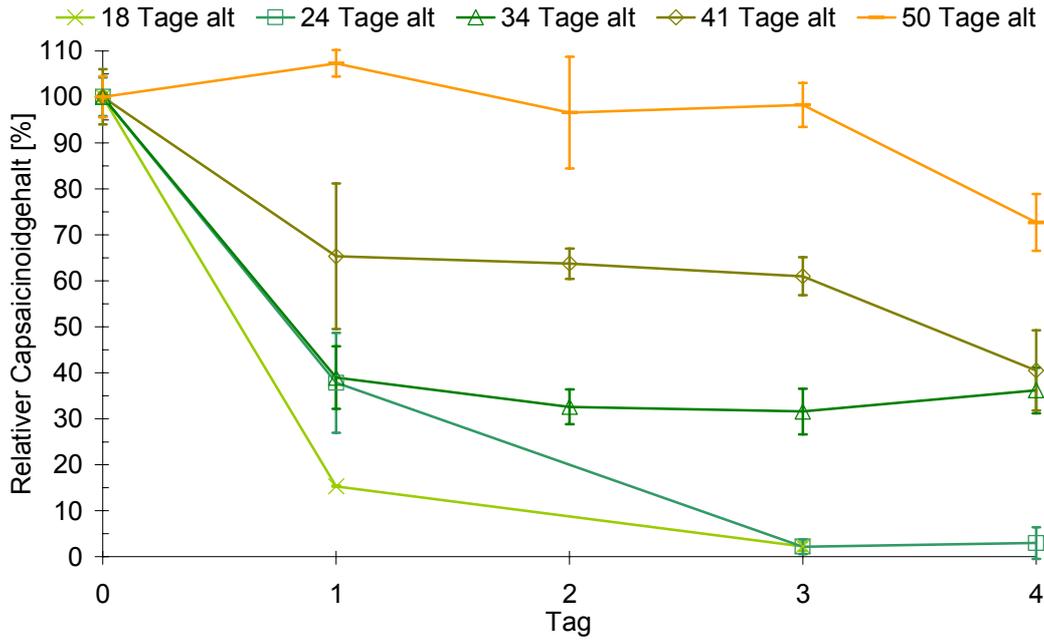


Abbildung 44: Lagerung zerkleinerten Fruchtmaterials mit einem Alter von 18, 24, 34, 41 und 50 Tagen (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 2)

In Abbildung 45 sind die relativen Capsaicinoidgehalte während der Lagerung von 60, 71 und 81 Tage altem, zerkleinertem Fruchtmaterial dargestellt.

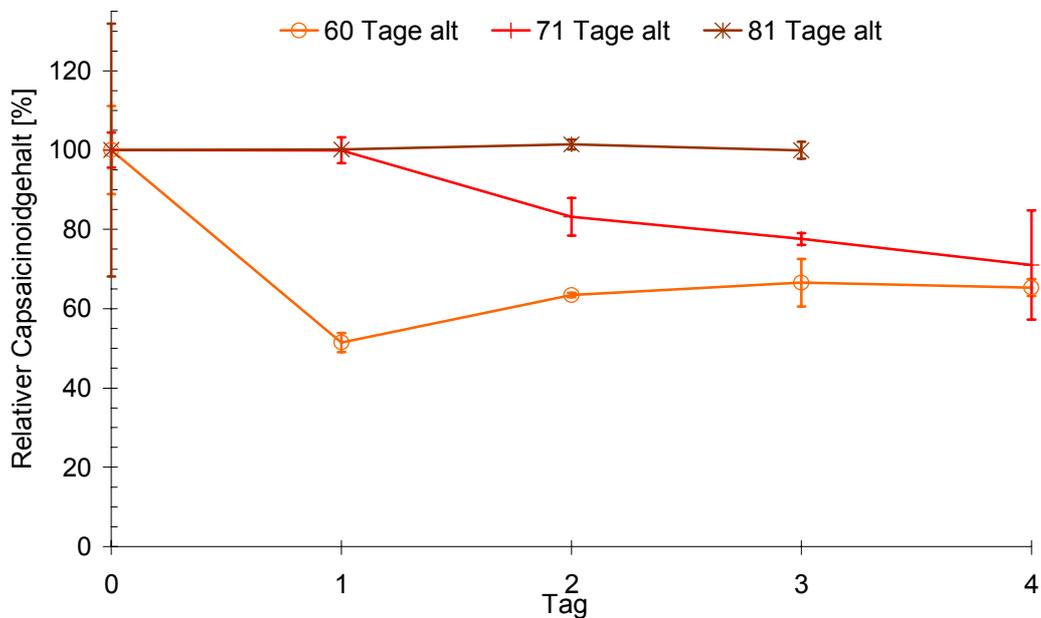


Abbildung 45: Lagerung zerkleinerten Fruchtmaterials mit einem Alter von 60, 71 und 81 Tagen (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 2)

Junge Früchte zeigten den schnellsten und stärksten Schärfeabbau, der sich mit zunehmendem Fruchtalter verringert und bei 50 Tage oder 60 Tage alten Früchten deutlich geringer ausfiel. Noch ältere Früchte (71 und 81 Tage) waren bereits am Strauch getrocknet und zeigten ebenfalls keinen Schärfeabbau mehr.

### 3 DISKUSSION

#### 3.1 Heterogenität im Capsaicinoidgehalt von Gewürzpaprikafrüchten identischer Herkunft: Nodium und Erntezeitpunkt

In den Vorarbeiten durch *Kirschbaum*<sup>60</sup> zur Stabilität und Umwandlung von Capsaicinoiden wurden erhebliche Unterschiede im Capsaicinoidgehalt der einzelnen Früchte eines Kaufs beobachtet. Der Ursprung, das Alter und die Transportbedingungen dieser Früchte waren unbekannt und konnten auch nicht kontrolliert werden. Aus diesem Grund wurden Chilipflanzen im Gewächshaus angebaut.

Von über 400 Früchten von sieben Pflanzen wurden in den Jahren 2001 und 2002 jeweils das Fruchtalter, das Fruchtgewicht, die Fruchtposition an der Pflanze und der Scharfstoffgehalt ermittelt. In Tabelle 5 sind die beachtlichen Schwankungsbreiten im Capsaicinoidgehalt von 247 Einzelfrüchten mit einem Fruchtalter von über 25 Tagen wiedergegeben.

Pflanze	Früchte- anzahl	Capsaicinoidgehalte	
		[mg/Frucht]	[mg/kg]
Sibirische Hauspaprika 1 (2001)	39	0,01-2,41	13-1126
Sibirische Hauspaprika 2 (2001)	42	0,19-3,23	213-1204
De Arból 1 (2001)	40	0,24-1,70	266-2497
De Arból 2 (2001)	22	0,01-2,42	11-3453
Cayenne 1 (2001)	17	1,29-3,78	348-2760
Cayenne 2 (2001)	35	0,05-2,76	67-1231
Sibirische Hauspaprika (2002)	52	0,23-2,56	160-1752

**Tabelle 5: Schwankungsbreiten der über 25 Tage alten Einzelfrüchte von sieben Pflanzen (Anbaujahre 2001 und 2002)**

Mit Hinblick auf die Untersuchung von *Kirschbaum et al.*<sup>140</sup>, in der die Capsaicinoidgehalte von 6 Einzelfrüchten trotz enger Verwandtschaft der Früchte stark variierten (217-632 mg/kg), bestätigen die vorliegenden Ergebnisse, dass sich die Capsaicinoidgehalte von Früchten ein und desselben Strauches an einem

gemeinsamen Erntetag erheblich unterscheiden. Nur wenige Arbeiten machten vor *Kirschaum* auf die Heterogenität im Capsaicinoidgehalt von Einzelfrüchten aufmerksam.

*Schratz und Rangoonwala*<sup>84</sup> untersuchten 1966 56 vollreife Einzelfrüchte von Pflanzen, die sie erst im Gewächshaus und später im Kaltbeet angebaut hatten, und beobachteten, dass der Capsaicinoidgehalt innerhalb der gleichen Art je nach Herkunft des Saatgutes einer sehr starken Variabilität unterliegt. In dem untersuchten Material wurden in *Capsicum annuum* 1 200-16 900 mg/kg gefunden. Ebenso war der Absolutgehalt der Früchte mit 0,1-17,0 mg/Frucht recht unterschiedlich.

*Rymal et al.*<sup>150</sup> sind 1984 ebenfalls kurz auf die Heterogenität der Capsaicinoidgehalte einzelner Früchte unbekannter Herkunft eingegangen. Sie untersuchten zehn Früchte und stellten fest, dass der Capsaicinoidgehalt von 630-1 230 mg/kg schwankte.

*Kurian und Starks*<sup>151</sup> untersuchten in zwei aufeinander folgenden Jahren jeweils 36 Einzelfrüchte aus dem Handel (*C. chinense* „Orange Habanero“). Für kleine (< 5 g), mittlere (5-8 g) und große Früchte (8-12 g) wurden in beiden Jahren die Capsaicin- und Dihydrocapsaicinoidgehalte bestimmt. Da alle Einzelwerte tabellarisch publiziert wurden, konnte eine weiterführende statistische Auswertung erfolgen (Tabelle 6).

Früchte	Anbaujahr 1999			Anbaujahr 2000		
	Früchteanzahl	Mittelwert des Capsaicinoidgehalts pro Frucht	Variationskoeffizient	Früchteanzahl	Mittelwert des Capsaicinoidgehalts pro Frucht	Variationskoeffizient
klein	14	6,5 mg	37 %	11	7,3 mg	23 %
mittel	11	11,0 mg	26 %	13	12,4 mg	23 %
groß	11	16,6 mg	14 %	12	16,3 mg	16 %

**Tabelle 6: Mittelwerte der Capsaicinoidgehalte und Variationskoeffizienten berechnet aus den Tabellen 2 und 4 von *Kurian und Starks*<sup>151</sup>**

*Kurian und Starks* weisen darauf hin, dass die starken Streuungen der Capsaicinoidgehalte von Einzelfrüchten zu Probenahmefehlern bei Proben führen können, die aus einer kleinen Fruchteanzahl bestehen. Erst Fruchtmaterial (25-100 g) aus 5-19 Früchten, zusammen aufgearbeitet, führt zu besser reproduzierbaren Ergebnissen im Capsaicinoidgehalt und -muster (Variationskoeffizient 5,5 %), die mit dem Mittelwert aus Einzelfrüchten gut übereinstimmen.

In der vorliegenden Arbeit sind überwiegend kleine Früchte (< 5 g) untersucht worden. Die ermittelten Variationskoeffizienten, die für die Capsaicinoidgehalte der über 25 Tage alten Einzelfrüchte berechnet wurden (Tabelle 7), sind vergleichbar denen der Fruchtgruppe „klein“ von *Kurian und Starks*.

Früchte	Anbaujahr 2001			Anbaujahr 2002		
	Früchte-anzahl	Mittelwert des Capsaicinoidgehalts pro Frucht	Variationskoeffizient	Früchte-anzahl	Mittelwert des Capsaicinoidgehalts pro Frucht	Variationskoeffizient
Cayenne	41	1,9 mg	30 %	/	/	/
Sibirische Hauspaprika	76	1,2 mg	43 %	51	0,9 mg	53 %

**Tabelle 7: Mittelwerte der Capsaicinoidgehalte und Variationskoeffizienten der untersuchten, über 25 Tage alten Früchte**

In Tabelle 6 und Tabelle 7 sind weder bei den Capsaicinoidgehalten noch bei den Variationskoeffizienten Jahreseffekte ersichtlich.

*Kurian und Starks* zeigen außerdem, dass der absolute Capsaicinoidgehalt pro Frucht nicht gut mit dem Fruchtgewicht korreliert; denn die Messwerte der Einzelfrüchte streuen stark bei einer Auftragung des Capsaicinoidgehaltes in Abhängigkeit vom Frischgewicht um die Regressionsgerade. Die Beobachtung dieser Forschungsgruppe hat die in der vorliegenden Arbeit gewählte Vorgehensweise bestätigt, die Capsaicinoidgehalte pro Frucht und nicht pro Gewicht zu betrachten.

In der Arbeit von *Kurian und Starks* wurden gekaufte Früchte untersucht. Bei *Rymal et al.* fehlen Angaben zur Herkunft der untersuchten Früchte. Der Arbeit von *Schratz und Rangoonwala* ist wiederum nicht zu entnehmen, ob die geernteten Früchte von einer Pflanze stammen, um gleiche Umweltbedingungen zu gewährleisten.

Das Gewächshaus lieferte für den Pflanzenanbau konstante Umweltbedingungen, die laut *Jurenitsch et al.*<sup>58</sup> und der Arbeitsgruppe um *Bosland* die Scharfstoffanreicherung stärker als die genetische Ausstattung beeinflussen (Kapitel 1.7.5). *Harvell und Bosland*<sup>96</sup> weisen darauf hin, dass eine besonders scharfe Frucht einer

eigentlich milden Sorte, die sie untersucht haben, schärfer sein kann, als eine besonders milde Frucht einer als mittelscharf deklarierten Sorte. Wie schwierig es deshalb für Züchter und Produzenten ist, stets gleich scharfe Früchte anzubieten, zeigten *Zewdie und Bosland*<sup>97</sup>, als sie lediglich einen von sechs gezüchteten Genotypen als stabil gegenüber Umwelteinflüssen herausstellen konnten. Aber auch sie haben nicht einzelne Früchte ein und derselben Pflanze untersucht, sondern lediglich rote, reife Früchte einer oder mehrerer Pflanzen zusammengefügt und analysiert.

In der vorliegenden Arbeit wurde beachtet, dass die angebauten Pflanzen unter identischen Bedingungen wuchsen und dass die einzelnen Früchte von der gleichen Pflanze zum gleichen Zeitpunkt geerntet wurden.

Die Heterogenität des Capsaicinoidgehaltes bei Früchten von Pflanzen, die unter identischen Bedingungen gewachsen waren, sowie zwischen Einzelfrüchten, die von der gleichen Pflanze zum gleichen Zeitpunkt geerntet worden waren (Abbildung 10, Seite 40 und Abbildung 11, Seite 41), lassen die Frage aufkommen, ob andere als genetische und ökologische Faktoren den Schärfegrad beeinflussen.

So kann der Schärfegrad zu einem bestimmten Erntezeitpunkt aus den Begleitumständen während der Biosynthese resultieren. Intensive Studien zur Biosynthese der Capsaicinoide<sup>5, 69, 83</sup> ergaben, dass der Vanillylaminteil des Moleküls über den Phenylpropanoidweg synthetisiert wird und der Ursprung des Fettsäureteils in den Aminosäuren Valin, Leucin und Isoleucin liegt. Im letzten Biosyntheseschritt werden beide Teile vermutlich an der Vakuolenmembran der Plazentazellen verknüpft. Die Phenylpropanoide werden aber nicht nur als Vorstufen für die Biosynthese der Capsaicinoide benötigt, sondern fließen auch, vor allem in heranreifenden Samen, in die Biosynthese des ligninartigen Materials, das ungefähr im gleichen Zeitraum aufgebaut wird. In Publikationen von *Yeoman et al.*<sup>67</sup>, *Estrada et al.*<sup>26, 44, 88</sup> *Bernal et al.*<sup>101</sup> und *Curry et al.*<sup>152</sup> wird wiederholt auf die Konkurrenz um die gleichen Vorstufen für verschiedene Synthesewege im pflanzlichen Metabolismus im Zusammenhang mit der Bildung und Anreicherung der Capsaicinoide verwiesen. Aber auch Stress beeinflusst bekannterweise den Phenylpropanoidmetabolismus<sup>77</sup> und kann sich indirekt auf die Capsaicinoidsynthese auswirken.

Nach der Synthese werden die Capsaicinoide anschließend in den Vakuolen angereichert und aufgrund einer subzellulären Verteilung extrazellulär ausgeschieden.<sup>5, 66</sup> Eventuell setzt zu diesem Zeitpunkt ein weiterer Transport, z. B. aus der Frucht in die

Blätter und den Stengel, ein.<sup>153</sup> Über derartige Transportmechanismen und, welche Faktoren sie möglichenfalls beeinflussen, ist bisher nichts bekannt.

Ebenfalls wird eine chemische Umwandlung der Capsaicinoide diskutiert. Obwohl *Kirschbaum et al.*<sup>108</sup> einen Capsaicinoidabbau nur nach Zellzerstörung beobachteten, können die Capsaicinoide, die in den gleichen Zellkompartimenten wie die Isoenzyme der Peroxidasen<sup>88, 101</sup> vorliegen, eine oxidative Umwandlung erfahren. Extrazellulär ausgeschiedene Capsaicinoide<sup>5</sup> sind für diese Enzyme allerdings nicht mehr verfügbar.

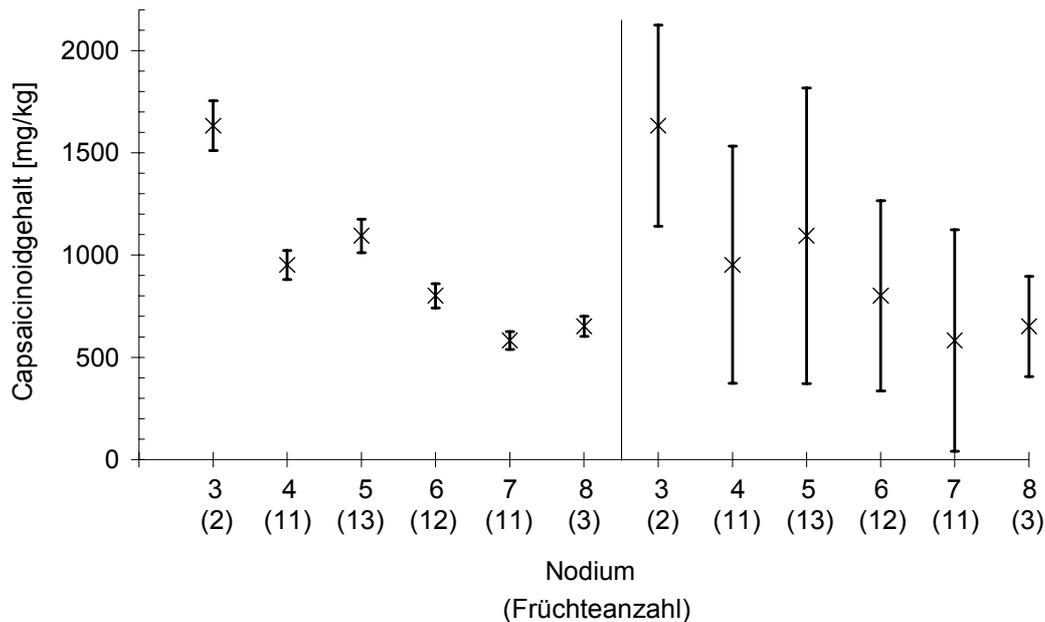
Eine Aussage zur Abhängigkeit des Scharfstoffgehaltes vom Fruchtalter, sofern dieses mehr als 25 Tage beträgt, konnte nicht getroffen werden. Berechnet wurden sehr große 90 % - Konfidenzintervalle für die gemittelten Scharfstoffgehalte von Einzelfrüchten einer Altersstufe, die nochmals die starke Streuung der Capsaicinoidgehalte der Einzelfrüchte verdeutlichen. Die 90 % - Vertrauensbereiche für Früchte einer Altersstufe überlappen ganz oder größtenteils mit denen der anderen Altersstufen, so dass sich kein altersabhängiger Capsaicinoidgehalt der Früchte feststellen ließ. Die vorliegenden Ergebnisse belegen nicht die in der Literatur aufgeführten Aussagen, dass die Anreicherung der Capsaicinoide bis zu einem Maximum ansteigt, wenn die Frucht ihre maximale Länge erreicht hat, und in manchen Fällen wieder abnimmt (Tabelle 2, Seite 21). Das Fruchtalter mit maximalem Scharfstoffgehalt unterschied sich jedoch bereits bei ein und derselben Sorte, *C. annuum* var. *annuum* cv. *Padrón*. Die Forschungsgruppe von *Bernal et al.*<sup>25, 26, 44, 88, 95</sup> beobachtete hierbei sowohl Jahreseffekte beim Pflanzenanbau in unterschiedlichen Jahren als auch jahreszeitlich bedingte Veränderungen, wie z. B. eine höhere Capsaicinoidanreicherung in Früchten, die von Juni bis September herangereift waren, im Vergleich zu Früchten mit einer Reifezeit im Oktober.

Die bisher in der Literatur beschriebenen Akkumulationskurven der Capsaicinoide können ein Zufallsresultat aufgrund der Probennahme sein. In keiner dieser Publikationen wird auf die breite Heterogenität der Capsaicinoidgehalte einzelner Früchte eingegangen. Auch ist meist nicht ersichtlich, ob Einzelfrüchte untersucht oder ob mehrere Früchte zusammen aufgearbeitet wurden und Mittelwerte angegeben werden.

Die Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Nodium wurde ebenfalls untersucht. Die 90 % - Konfidenzintervalle für Früchte eines Nodiums und einer Altersstufe überschneiden sich ganz oder größtenteils mit denen der anderen Nodien, so dass sich keine Ab- oder Zunahme im Capsaicinoidgehalt von Einzelfrüchten mit auf- oder absteigender Nodienzahl beobachten ließ (Abbildung 14, Seite 44 und Abbildung 16, Seite 45).

*Zewdie und Bosland*<sup>141</sup> befassen sich mit dem Einfluss der Fruchtposition an der Pflanze auf den Schärfegehalt. Reife, rote Früchte wurden vom zweiten, dritten, vierten, fünften und sechsten Nodium geerntet, pro Nodium zusammen aufgearbeitet und analysiert. Die Schärfe, ausgedrückt als SHU in [mg/kg Fruchtmaterial], war am höchsten in Früchten des zweiten Nodiums und sank nahezu linear mit steigender Nodienzahl. Die Autoren führen dies darauf zurück, dass sich in den unteren Nodien nur wenige Früchte entwickeln, die um die Nährstoffe konkurrieren. Die Fruchteanzahl nimmt mit der Nodienzahl zu. Je mehr Früchte sich im späteren Entwicklungsstadium der Pflanze in den höheren Nodien befinden, eine umso stärkere Konkurrenz um die Substrate herrscht, mit dem Resultat einer geringeren Capsaicinoidproduktion. Da keine Angaben vorliegen, wie viele Früchte gewachsen waren, wie viele davon geerntet, ob alle zum gleichen Zeitpunkt geerntet und wie viele davon untersucht wurden, überzeugt diese Argumentation nicht, insbesondere unter Berücksichtigung, dass „Pärchen“ und „Drillinge“ so unterschiedliche Capsaicinoidgehalte aufweisen (Abbildung 11, Seite 41).

Um dies nachzuprüfen, wurde der jeweilige Mittelwert aus den Capsaicinoidgehalten von den mehr als 25 Tage alten Einzelfrüchten ein und derselben Pflanze (*C. annuum var. annuum* „Sibirische Hauspaprika“) pro Nodium berechnet und in Abbildung 46 graphisch wiedergegeben. Auf der linken Seite des Diagrammes wurde, um rein rechnerisch die Mehrfachbestimmung eines zusammen aufgearbeiteten Gemisches aus Früchten eines Nodiums zu imitieren, die analytische Präzision der angewandten Methode in Form der Standardabweichung angegeben. Auf der rechten Seite des Diagrammes wurden die 90 % - Konfidenzintervalle eingetragen, um die Streuung der Einzelfrüchte wiederzugeben.



**Abbildung 46: Mittelwerte aus den Capsaicinoidgehalten [mg/kg] der über 25 Tage alten Einzelfrüchte mit 90 %- Konfidenzintervallen pro Nodium (Sibirische Hauspaprika, 1 Pflanze, Anbaujahr 2002)**

**linke Seite: Mittelwerte mit Standardabweichung der Analytik**

**rechte Seite: Mittelwerte mit 90 %-Konfidenzintervall unter Berücksichtigung der Früchtezahl**

Wie Abbildung 46 zu entnehmen ist, liegt bei alleiniger Betrachtung der Mittelwerte unter Berücksichtigung der Methodenpräzision (linke Seite) scheinbar eine geringfügig fallende Tendenz im Capsaicinoidgehalt mit steigendem Nodium vor. Der entscheidende Unterschied bei der Analyse von Einzelfrüchten (rechte Seite) im Vergleich zu einem Gemisch ist die Berücksichtigung der Variabilität der Einzelfrüchte. Anhand der 90 %- Vertrauensbereiche wird ersichtlich, dass sich die Capsaicinoidgehalte der Früchte des 4.-8. Nodiums nicht statistisch signifikant unterscheiden. Im Vergleich der Nodien 3 und 5 zeigen die Mittelwerte mit Standardabweichung der Analytik (linke Seite) einen Unterschied, der sich bei den Einzelfrüchten (rechte Seite) wegen der starken Überlappung der Konfidenzbereiche nicht wiederfindet.

Folgendes Vorgehen soll das Problem veranschaulichen, repräsentative Werte bei der Untersuchung von fünf Einzelfrüchten zu ermitteln. Proben, die aus fünf Früchten zusammengesetzt sind, wurden hinsichtlich des Schärfegehaltes bereits von *Iwai*<sup>64</sup>, *Kurian und Starks*<sup>151</sup> sowie *Kirschbaum*<sup>60</sup> untersucht, vor dem Hintergrund, dass eine zufrieden stellende Präzision der Analysenwerte erst ab einem Gemisch von fünf Früchten erzielt werden kann.

In mehreren Fällen ließen sich Früchte der gleichen Altersstufe und des gleichen Nodiums aufgrund einer hohen Früchteanzahl auf zwei Gruppen verteilen:

- 1.) die erste Gruppe aus fünf Früchten mit den niedrigsten Capsaicinoidgehalten und
- 2.) die zweite Gruppe aus fünf Früchten mit den höchsten Capsaicinoidgehalten.

Aus den Capsaicinoidgehalten der Einzelfrüchte wurden für die beiden Untergruppen die Mittelwerte unter Berücksichtigung der Standardabweichung der Methode sowie der 90 % - Konfidenzintervalle berechnet und in Abbildung 47 dargestellt.

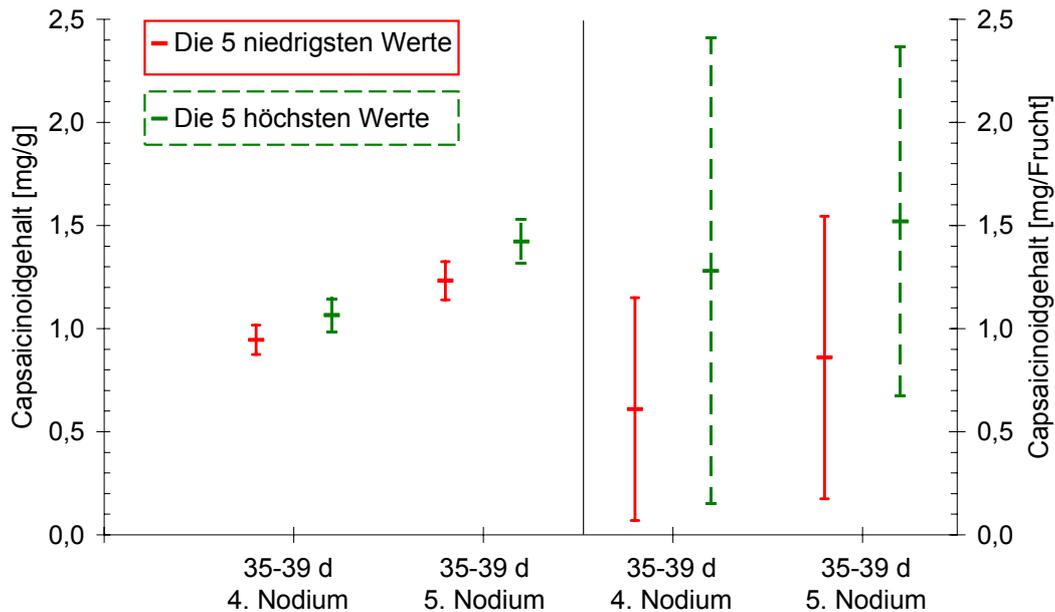


Abbildung 47: Die **5 niedrigsten** und **5 höchsten** Mittelwerte, berechnet aus den Capsaicinoidgehalten von Einzelfrüchten des 4. und 5. Nodiums (Sibirische Hauspaprika, 1 Pflanze, Anbaujahr 2002)

linke Seite: Mittelwerte [mg/g] mit Standardabweichung der Analytik

rechte Seite: Mittelwerte [mg/Frucht] mit 90 %-Konfidenzintervall unter Berücksichtigung der Früchtezahl

Die Auftragung der Standardabweichung der Methode (auf der linken Seite des Diagrammes) gibt das rechnerische Ergebnis einer Mehrfachbestimmung der zusammen aufgearbeiteten und gemessenen Früchte unter Berücksichtigung der analytischen Präzision der angewandten Methode wieder. Im Vergleich der weniger scharfen Fruchtgruppe des vierten Nodiums mit der schärferen Gruppe des fünften Nodiums scheint der Scharfstoffgehalt mit zunehmendem Nodium anzusteigen.

Unter Berücksichtigung der 90 % - Vertrauensbereiche (auf der rechten Seite des Diagrammes) wird ersichtlich, dass aufgrund der Streuung der Einzelfrüchte im Capsaicinoidgehalt kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Werten des vierten und fünften Nodiums besteht. Da sich die Vertrauensbereiche aber nicht voll-

ständig überlappen, könnte es als Folge einer nicht-repräsentativen Probenahme passieren, dass weniger scharfe Früchte des vierten Nodiums sowie schärfere Früchte des fünften Nodiums außerhalb des Überlappungsbereichs untersucht werden. Demzufolge könnten die Früchte mit niedrigeren Gehalten für Früchte des vierten Nodiums und höheren Gehalten für Früchte des fünften Nodiums eine Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes von der Fruchtposition an der Pflanze vortäuschen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit führen zu der Erkenntnis, dass Einzelfrüchte nicht zur Beobachtung von Biosynthesekurven, von Abbaukurven vor sowie nach der Ernte oder von Umwelteinflüssen wie Feuchtigkeit, Licht, Temperatur und Düngung verglichen werden können. Bereits veröffentlichte Ergebnisse zu diesen Punkten, insbesondere die Aussagen zu einer Abnahme der Capsaicinoidgehalte mit fortschreitender Reife (Kapitel 1.7.6.1), müssen somit unter Vorbehalt betrachtet werden.

### **3.2 Abnahme des Capsaicinoidgehaltes bei unterschiedlichen Lagerungsbedingungen nach Zerkleinerung der Gewürzpaprikafrüchte**

Als Erklärung für niedrigere Scharfstoffgehalte in den späteren Reifestadien der Frucht werden verschiedene Mechanismen für chemische Reaktionen der Capsaicinoide innerhalb der Frucht diskutiert (Kapitel 1.7.6.1).<sup>46, 67, 99, 101</sup> So können das basische Peroxidase-Isoenzym B<sub>6</sub>, das in den Vakuolen der epidermalen Plazentazellen lokalisiert ist<sup>100, 101</sup>, und die saure Peroxidase, die aus dem Fruchtfleisch isoliert werden konnte<sup>104</sup>, die Umwandlung von Capsaicin und Dihydrocapsaicin in ligninartige Substanzen bewirken, indem sie in der ersten Stufe die Dimerisierung der Capsaicinoide katalysieren.<sup>103</sup> Diese in vitro-Ergebnisse wurden noch nicht durch in vivo-Experimente zur Klärung von intrinsischen Capsaicinoidgehalten und deren Stabilität bestätigt; jedoch vermutete *Kirschbaum*<sup>60</sup>, dass am Capsaicinoidabbau, der erst nach Zerstörung der Zellstrukturen beobachtet wurde, Peroxidasen beteiligt sind.

Die Analysen der vorliegenden Arbeit wurden überwiegend mit spanischen Früchten, die über niederländische Importeure zu deutschen Großmärkten und damit in den Einzelhandel gelangten, durchgeführt. Die spanische Arbeitsgruppe von *Bernal et al.* berichtet, dass gerade Früchte mit einer milden Schärfe bei den Konsumenten

hochgeschätzt sind. Aus diesem Grund werden im Nordwesten Spaniens (Galicien) die frisch zu verzehrenden Früchte von *C. annuum* var. *annuum* cv. *Padrón* geerntet, wenn sie ca. 5,5 cm lang, 2,5 cm breit, grün und unreif sind sowie einen niedrigen Schärfegrad aufweisen.<sup>25, 41</sup> Die Bezugsgröße für den Zeitpunkt des Versuchsbeginns startete deshalb bei vielen Analysenreihen mit Capsaicinoidgehalten zwischen 20 und 100 mg/kg.

Ein Vergleich von 25 Lagerstudien, die mit gekauften Früchten durchgeführt wurden, ließ erkennen, dass der Capsaicinoidabbau während der Lagerung von zerkleinertem Fruchtmaterial nicht vom Anfangsschärfegehalt abhängt. In Tabelle 8 sind die Abbaugrade der Kontrollproben aufgeführt, die ohne Vorbehandlung gelagert wurden. Die Messreihen sind aufsteigend nach dem Anfangsschärfegehalt sortiert.

Anfangscapsaicinoidgehalt [mg/kg]	Abbau auf ... [%]
17	65
18	16
19	41
22	12
29	29
31	32
31	32
34	3
37	2
42	76
48	21
48	73
49	3
52	29
54	73
55	21
74	7
83	2
98	62
103	29
111	79

**Tabelle 8: Anfangsschärfegehalte und Abbauintensitäten nach 3 oder 4 Tagen (unter Positivbedingungen) in allen durchgeführten Analysen**

Anfangscapsaicinoidgehalt [mg/kg]	Abbau auf ... [%]
128	87
399	58
472	81
483	68

**Tabelle 8 (Fortsetzung): Anfangsschärfegehalte und Abbauintensitäten nach 3 oder 4 Tagen (unter Positivbedingungen) in allen durchgeführten Analysen**

Sowohl bei den Vergleichswerten wie auch bei den vorbehandelten, z. B. geschälten, gefriergetrockneten oder eingefrorenen, Proben wurde stets festgestellt, dass der Abbau – wenn auch unterschiedlich stark – unter Beibehaltung des Capsaicinoidmusters erfolgt. Unter der Annahme, dass Enzyme am Capsaicinoidabbau beteiligt sind, bedeutet dies, dass diese Enzyme unspezifisch arbeiten, da kein Capsaicinoid begünstigt oder benachteiligt abgebaut wird.

Die Lagerung unter Stickstoff oder Sauerstoff zeigte, dass die Capsaicinoide in zerkleinertem Fruchtmaterial nur in oxidativer Atmosphäre abgebaut werden. Die Temperatur spielte dabei eine wichtige Rolle. Während *Kirschbaum*<sup>60</sup> beobachtete, dass bei den tiefen Temperaturen des Kühlschranks kein Abbau stattfand, wurde in der vorliegenden Arbeit eine langsame Schärfeabnahme bei Kühlschranktemperaturen gemessen. Die enzymatischen Reaktionen waren bei niedrigen Temperaturen nicht, wie von *Kirschbaum* beschrieben, gehemmt, sondern liefen verlangsamt ab. Die Proben bei *Kirschbaum* wurden in offenen Bechergläsern in einem selbstabtauenden Kühlschrank gelagert, so dass nach acht Tagen ein Trocknungsverlust von ca. 50 % vermerkt wurde. Im Unterschied dazu wurden die Bechergläser in dieser Arbeit im abgeschlossenen Raum des nicht evakuierten Exsiccators aufbewahrt, um einen Wasserverlust zu minimieren.

Diese Beobachtungen belegen den Einfluss des Wassergehaltes. Während bei *Kirschbaum* niedrige Temperaturen und der rasche Trocknungsverlust den Schärfenabbau hemmen konnten, wurde er in der vorliegenden Arbeit durch die niedrigen Temperaturen nur verlangsamt.

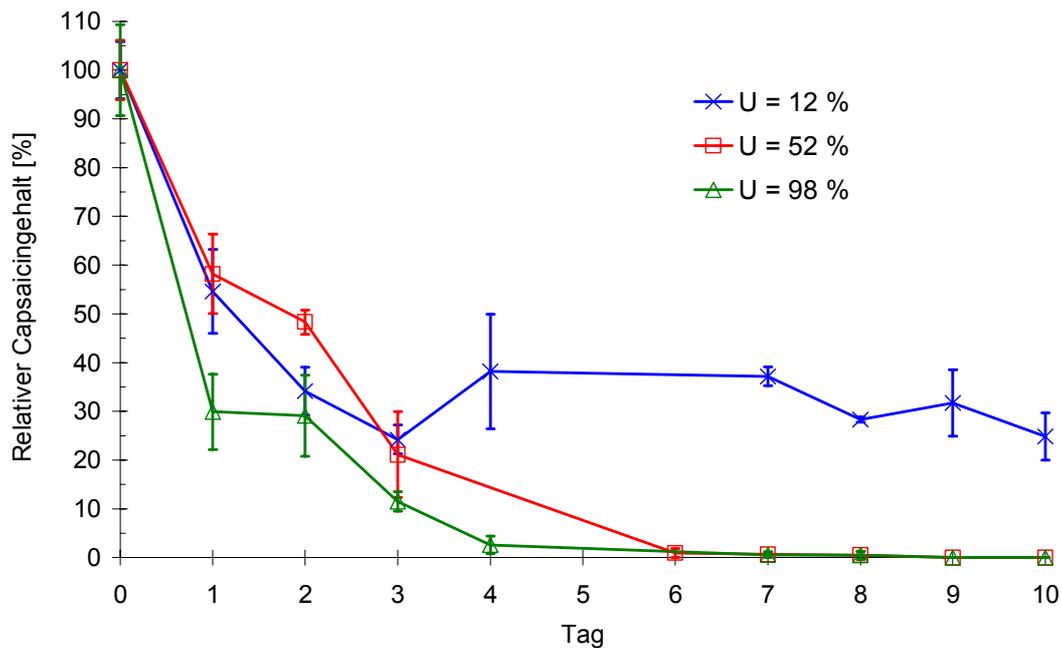
Der Einfluss des Wassergehaltes wurde in einer weiterführenden Untersuchung überprüft, in der zerkleinertes Probenmaterial bei verschiedenen Luftfeuchten (U) gelagert worden ist. Die drei Luftfeuchten 12 %, 52 % und 98 % führten erwartungs-

gemäß zu einem unterschiedlichen Grad des Wasserverlustes. Bei definierter Luftfeuchte wurden die Proben darüber hinaus unter Stickstoff (bei Raumtemperatur) oder Sauerstoff (bei Raumtemperatur oder im Kühlschrank) gelagert (Abbildung 31, Seite 63, Abbildung 32, Seite 64 und Abbildung 33, Seite 65).

Die unter Stickstoff bei Raumtemperatur gelagerten Proben zeigten bei allen drei Luftfeuchten keine Tendenz für einen Capsaicinoidabbau. Die Schwankungen und die relativ großen Standardabweichungen der Messwerte werden auf die Probenaufarbeitung zurückgeführt. Obwohl die Früchte während der Zerkleinerung und des Einwiegens ständig gekühlt wurden, sind enzymatische Prozesse nicht ganz auszuschließen. Da die Arbeiten nicht unter Ausschluss von Sauerstoff durchgeführt wurden, die Zeit vom Beginn der Zerkleinerung bis zur Einlagerung etwa zwei Stunden betrug und auch das Fruchtgewebe selbst noch Sauerstoff enthält, ist ein geringer Capsaicinoidabbau plausibel.

Die Lagerung im Kühlschrank unter Sauerstoff hielt zwar den Capsaicinoidabbau zunächst auf, konnte diesen aber bei längerer Lagerung nicht verhindern. Interessanterweise fand bei 12 % Luftfeuchte trotz niedriger Temperaturen ein stärkerer Abbau statt als bei Raumtemperatur. Dies wird darauf zurückgeführt, dass höhere Trocknungsverluste bei Raumtemperatur (26 %) als bei Kühlschranktemperaturen (12 %) vorliegen. Dies bestätigt erneut, dass Trocknungsverluste einen Capsaicinoidabbau in zerkleinertem Fruchtmaterial verhindern.

In Abbildung 48 sind die drei Messreihen mit den unterschiedlichen Luftfeuchten für die Bedingung „Sauerstoff – Raumtemperatur“ in einem einzigen Diagramm gegenübergestellt.



**Abbildung 48: Lagerung von zerkleinertem Fruchtmaterial unter Sauerstoff bei Raumtemperatur und bei drei verschiedenen Luftfeuchten (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3)**

Bei für Peroxidasen günstigen Bedingungen wie Raumtemperatur, Sauerstoff und einem hohen Wassergehalt (98 % Luftfeuchte) nahm der Capsaicinoidgehalt rasch ab. Jedoch reichten schon geringe Trocknungseffekte aus, um den Abbau zu verzögern (52 % Luftfeuchte) und nach wenigen Tagen zu stoppen (12 % Luftfeuchte).

Wenn auch nicht so gravierend wie die Trocknungseffekte, wirkten sich tiefe Temperaturen (Kühlschrank) bei den bisherigen Untersuchungen von zerkleinertem Fruchtmaterial stabilisierend auf die Capsaicinoide aus. Der Temperatureinfluss auf den Capsaicinoidabbau selbst innerhalb eines engen Temperaturbereichs wurde bei der Lagerung von zerkleinertem Fruchtmaterial bei 17 °C, 22 °C und 27 °C beobachtet (Kapitel 2.2.9). Die Scharfstoffe waren bei 17 °C nach drei Tagen auf ca. 20 % abgebaut und wiesen danach bis zum letzten Lagertag, Tag 6, einen annähernd konstanten Gehalt auf. Bei 22 °C betrug der Scharfstoffgehalt nach drei Tagen 35 % und nach vier Tagen ca. 30 % des Anfangsschärfegehaltes. Die bei 27 °C gelagerten Proben zeigten nach drei Tagen mit ca. 40 % des Anfangsgehaltes einen schwächeren Scharfstoffabbau. Der Einfluss der Umgebungstemperatur unterhalb von 17 °C wurde noch nicht untersucht. In der Literatur ist derzeit noch nichts über die Temperaturoptima von Isoenzymen der Peroxidase bekannt.

Auch Peroxidasen, die bei intakten Früchten in anderen Fruchtkompartimenten, insbesondere aber in der äußeren Fruchtschale, zu finden sind, müssen für enzymatische Abbauprozesse in Betracht gezogen werden.

Die Lagerung geschälter Früchte zeigte, dass diese Enzyme, die die Lignifizierung von Phenolen katalysieren, um die Frucht vor Wasserverlust und mechanischer sowie mikrobieller Beschädigung zu schützen<sup>22</sup>, am Schärfeabbau von zerkleinerten Paprikafrüchten beteiligt sind. Der absolute Anfangscapsaicinoidgehalt ist in den geschälten Proben (ca. 100 mg/kg) aufgrund der Entfernung der schärfefreien Schale fast doppelt so hoch wie in den ungeschälten Proben (ca. 50 mg/kg), nimmt aber langsamer ab (Abbildung 36, Seite 72 und Abbildung 37, Seite 73).

Am Ende der fünftägigen ersten Lagerstudie waren die Scharfstoffe in den geschälten wie in den ungeschälten Proben gleich stark abgebaut, da trotz Entfernung der Schale und der dort lokalisierten Peroxidasen die restlichen, im Fruchtfleisch enthaltenen Peroxidasen die Capsaicinoide nach fünf Tagen im gleichen Ausmaß abgebaut haben.

Bei der zweiten Lagerstudie betrug der Capsaicinoidgehalt in den geschälten Proben nach vier Tagen noch 70 % des Anfangsgehaltes. In den Proben mit den ungeschälten Früchten wurden die Scharfstoffe auf 25 % des Anfangsgehaltes abgebaut. In geschältem Fruchtmaterial, dem nach der Zerkleinerung die zerkleinerten Schalen wieder zugefügt worden waren, wurde ein Capsaicinoidabbau mit gleicher Geschwindigkeit und gleicher Stärke beobachtet. Aufgrund der schwierigen Homogenisierbarkeit des Schalenmaterials schwankten die Messwerte aber relativ stark.

Mit Hinblick auf die Untersuchungen vieler Forschungsgruppen zur Stabilität der Capsaicinoide in heranreifenden Früchten, muss nochmals betont werden, dass *Kirschbaum et al.*<sup>108</sup> einen Capsaicinoidabbau erst nach Zellzerstörung beobachteten. Nur Capsaicinoide, die dennoch in den gleichen Zellkompartimenten wie die Peroxidasen<sup>88, 101</sup> vorliegen, können eine oxidative Umwandlung erfahren, während extrazellulär ausgeschiedene Capsaicinoide<sup>5</sup> für diese Enzyme nicht mehr verfügbar sind. Eine genaue Charakterisierung der Capsaicinoid-abbauenden Enzyme, d.h. der Peroxidasen oder deren Isoenzyme, ist noch nicht vorgenommen worden. Ein Capsaicinoidabbau wurde in vitro mit zugefügtem Capsaicin und Dihydrocapsaicin sowie einer mittels Acetonfällung isolierten, nicht weiter differenzierten Enzymquelle bestimmt.<sup>46, 98, 99, 100, 101</sup>

Da für die Untersuchung, ob das Fruchtalter den Capsaicinoidabbau beeinflusst (Kapitel 2.3), genügend Früchte selbst angebaute Pflanzen zu unterschiedlichen Zeitpunkten geerntet werden müssen und diese große Fruchteanzahl nicht innerhalb eines Tages aufgearbeitet werden kann, wurde analog der in vitro-Experimente anderer Arbeitsgruppen angenommen, dass die Enzymquellen nach der Isolierung oder in getrockneten Früchten tiefgefroren aufbewahrt werden können. Das Tiefgefrieren kann auch als eine der aktuellen Methoden genutzt werden, Chilis nach der Ernte bis zu zwei Jahren bei  $-35\text{ °C}$  zu konservieren.<sup>13</sup>

Lagerstudien mit gekauften, frischen Früchten, die zunächst eingefroren, zu einem späteren Zeitpunkt aufgetaut, zerkleinert und anschließend bei Raumtemperatur gelagert wurden, belegten im Vergleich mit nicht eingefrorenen Früchten des gleichen Einkaufs, dass die Scharfstoffe deutlich langsamer, nach einer längeren Lagerdauer aber gleich stark abgebaut werden. Möglicherweise wird bereits durch eine einwöchige Lagerdauer bei  $-18\text{ °C}$  ein Teil der Capsaicinoid-abbauenden Enzyme denaturiert oder andere am oxidativen Abbau beteiligte Komponenten, z. B.  $\text{H}_2\text{O}_2$  oder  $\text{H}_2\text{O}_2$ -liefernde Enzyme, zerstört, so dass als Folge ein langsamerer Abbau stattfindet. Weitere Untersuchungen wiesen darauf hin, dass die Scharfstoffe in Früchten, die für den langen Zeitraum von einem Jahr bei  $-18\text{ °C}$  aufbewahrt worden waren, nach Zerkleinerung nicht mehr abgebaut werden.

Der Abbau von Scharfstoffen in stark zerkleinerten Früchten muss daher zeitnah an frisch geernteten Früchten untersucht werden. Tiefgefrorene, im Sommer 2001 und 2002 selbst angebaute Früchte, die zu einem späteren Zeitpunkt aufgetaut und gelagert werden sollten, waren somit ungeeignet. Folglich wurden während des Sommers 2003 im Gewächshaus Pflanzen angebaut, deren Früchte nach dem Ernten sofort aufgearbeitet und der Lagerstudie zugeführt wurden.

Durch die Verwendung von definiertem Material unterschiedlicher Altersstufen aus dem Eigenanbau zeigte sich, dass die Abbauintensität vom Fruchtalter abhängt. Junge Früchte zeigten den schnellsten und stärksten Schärfeabbau, der sich mit zunehmendem Fruchtalter verringerte, bis er nicht oder nur noch geringfügig beobachtet werden konnte. Noch ältere Früchte waren bereits teilweise oder ganz getrocknet und zeigten ebenfalls keinen Schärfeabbau mehr. Unter Annahme einer enzymatischen Beteiligung am Capsaicinoidabbau nimmt die Enzymaktivität mit zunehmendem Fruchtalter ab.

Die Ergebnisse von *Contreras-Padilla und Yahia*<sup>46</sup>, dass die Peroxidaseaktivität während der Fruchtentwicklung und -reife mit zunehmender Fruchtreife ansteigt und am 50.-60. Tag nach der Blüte ihr Maximum erreicht, ließen dagegen einen stärkeren Abbau bei älteren Früchten erwarten.

In einem Farbttest (Kapitel 2.2.11) wurde die höchste Gesamtperoxidasekonzentration in der Schale ermittelt. Die geschälten Früchte wiesen durch die Entfernung der Peroxidase-reichen Schale eine entsprechend geringere Konzentration auf, was den verlangsamten Capsaicinoidabbau während der Lagerung von zerkleinerten Früchten bestätigt.

Die mit frischen Früchten annähernd gleiche Peroxidasekonzentration der in Stickstoff getauchten und sofort wieder aufgetauten Früchte spiegelt das mit den Vergleichswerten (frische, unbehandelte Früchte) identische Abbauverhalten während der Lagerstudie wieder.

Vorbehandlungen wie die Gefriertrocknung und die 1½-wöchige Lagerung bei -18 °C minderten die Aktivität um ein Drittel und führten auch bei den Lagerstudien des zerkleinerten Fruchtmaterials oder bei gefriergetrocknetem Fruchtmaterial zu einem deutlich geringeren Schärfeverlust.

Die vierwöchige Lagerung des gefriergetrockneten zerkleinerten Fruchtmaterials bei Raumtemperatur sowie der eingefrorenen Früchte bei -18 °C führte nochmals zu jeweils geringeren Peroxidasekonzentrationen als ohne diese Lagerung. Der letzte Punkt zeigt wiederholt die Notwendigkeit auf, den Abbau von Scharfstoffen in stark zerkleinerten Früchten zeitnah an frisch geernteten Früchten zu untersuchen.

Bei der Paprikapulverherstellung werden die nachgereiften und gewaschenen Früchte vorzerkleinert und auf einen Wassergehalt von 5-8 % getrocknet, um bei Bedarf zu Paprikapulver vermahlen zu werden.<sup>38, 144, 145</sup> Da in intakten Früchten oder bei schneller Trocknung von zerkleinertem Fruchtmaterial die Schärfe weitgehend erhalten bleibt, bei langsamer Trocknung dagegen abgebaut wird, schlägt *Kirschbaum*<sup>60</sup> als Nacherntebehandlung vor, durch die Art der Trocknung (schnell oder langsam) und die Wahl der Zerkleinerungsgröße der Früchte (halbe Früchte oder sehr kleine Fruchtstücke) den Schärfegrad eines Paprikapulvers zu steuern.

Wie *Kirschbaum*<sup>60</sup> bereits feststellte, ermöglicht insbesondere die Gefriertrocknung, dass der Scharfstoffgehalt trotz Zerkleinerung der Früchte durch die schnelle Trocknung erhalten bleibt.

Vier Lagerstudien mit gefriergetrocknetem, zerkleinertem Fruchtmaterial bestätigten zunächst, dass der Capsaicinoidgehalt durch die Gefriertrocknung nicht verringert wird. Günstig auf den Erhalt einer hohen Scharfstoffkonzentration wirkten sich Bedingungen aus, die den hohen Trocknungsgrad nach der Gefriertrocknung aufrecht erhielten. Um nachzuprüfen, ob sich der Wasserverlust positiv auf die Scharfstoffstabilität auswirkt und nicht lediglich das durch die Gefriertrocknung entzogene Wasserstoffperoxid als Reaktionspartner fehlt, wurde  $H_2O_2$  in *Capsicum*-typischer Konzentration<sup>††</sup> hinzugefügt. Die Zugabe eines kleinen Volumens an  $H_2O_2$  führte während der Lagerung zu keinem Capsaicinoidabbau. Im Gegensatz dazu wurde ein Abbau beobachtet, als mittels  $H_2O_2$ -Lösung die Ausgangseinwaage des gefriergetrockneten Fruchtmaterials wieder hergestellt wurde. Das gleiche Bild ergab sich, als statt der  $H_2O_2$ -Lösung lediglich destilliertes Wasser zur Einstellung der Ausgangseinwaage verwendet wurde. Das Probenmaterial war also nach der Gefriertrocknung mit dem ursprünglichen Wassergehalt wieder in der Lage,  $H_2O_2$  als Partner für die chemische Reaktion mit den Capsaicinoiden zu produzieren.

Diese Lagerstudien müssen allerdings wiederholt werden. Insbesondere der unterschiedliche Grad des Capsaicinoidabbaus nach Zugabe von destilliertem Wasser oder von  $H_2O_2$ -Lösung kann nicht quantitativ miteinander verglichen werden, da die beiden Lagerstudien mit Früchten verschiedener Einkaufschargen durchgeführt worden sind.

*Kirschbaum*<sup>60</sup> untersuchte die Stabilität der Capsaicinoide in halbierten und stark zerkleinerten Früchten. Mit 2 cm großen Fruchtstücken wurde in der vorliegenden Arbeit ein Zerkleinerungsgrad zwischen diesen Extremen gewählt, der dem technologischen Schritt der Vorzerkleinerung entspricht. Eine Abnahme des

---

<sup>††</sup> Die *Capsicum*-typische  $H_2O_2$ -Konzentration, die in der Literatur<sup>46, 98, 99, 101</sup> für in vitro-Analysen mit 0,1-0,3 mmol/L angegeben wurde, ist überprüft worden, indem zerkleinerte, frische Früchte unter Zugabe von 0,3 mmolarer Wasserstoffperoxidlösung im Verhältnis 10 + 1 gelagert wurden. Der prozentuale Scharfstoffabbau entsprach exakt dem der Vergleichswerte: Proben unter Zugabe von destilliertem Wasser im Verhältnis 10 + 1 und Proben ohne Zusatz. Demnach wurde davon ausgegangen, dass die Konzentration nicht zu hoch gewählt ist und daraus resultierende oxidative Zellschäden nicht zu erwarten sind.

Capsaicinoidgehaltes konnte bei diesem Zerkleinerungsgrad nicht festgestellt werden. Hieraus ist ersichtlich, dass erst bei vollständiger Zerstörung des Fruchtgewebes Scharfstoffverluste auftreten.

## 4 ZUSAMMENFASSUNG

*Capsicum*-Früchte sind weltweit in frischer oder eingelegter Form, zu Pulver getrocknet sowie als Zutat in Gewürzen und Saucen in der Ernährung sehr beliebt. Wichtig für die Qualitätsbewertung sind Farbe, Aroma und Schärfe, obwohl das Hauptaugenmerk vor allem auf der Farb- und Aromastabilität liegt. Sehr scharfe Früchte sind genauso wie milde oder sogar schärfefreie Früchte erwünscht. Die für die Schärfe verantwortlichen Hauptcapsaicinoide sind Capsaicin, Dihydrocapsaicin und Nordihydrocapsaicin. Versuche, den Capsaicinoidgehalt zu beeinflussen, konzentrieren sich auf genetische, landwirtschaftliche und technologische Ansatzpunkte. Umweltbedingungen, wie z. B. Klima, Licht und Temperatur, während des Pflanzenwachstums und der Fruchtreife wirken sich auf den Schärfegrad aus. Außerdem spielt auch die Verarbeitung nach der Ernte eine wichtige Rolle, wobei besonders die Trocknungsbedingungen und die Anzahl der enthaltenen Samen die Schärfe beeinflussen.<sup>47</sup>

In einer breit angelegten Studie in zwei aufeinander folgenden Jahren wurden für mehr als 400 einzelne Früchte von sieben Pflanzen das Alter, das Gewicht, die Position an der Pflanze und der Scharfstoffgehalt ermittelt. Die Capsaicinoidgehalte von Früchten ein und desselben Strauches mit identischem Erntezeitpunkt unterschieden sich erheblich. Die Auswertung dieser Daten hat die Problematik verdeutlicht, über die Untersuchung von wenigen Einzelfrüchten repräsentative Werte zu ermitteln. Durch die breite Variabilität im Scharfstoffgehalt von Einzelfrüchten besteht die Gefahr, dass ein Zusammenhang oder eine Abhängigkeit vom Fruchtalter, von der Fruchtposition, vom Fruchtgewicht oder von weiteren Parametern vorgetäuscht wird.

Die vorliegende Arbeit lässt aufgrund der beträchtlichen, statistisch auswertbaren Probenzahl erkennen, dass Einzelfrüchte nicht zur Beobachtung von Biosynthesekurven, von Abbaukurven oder von Umwelteinflüssen verglichen werden können.

Aufgrund der starken Heterogenität ließ sich eine Ab- oder Zunahme im Capsaicinoidgehalt von Früchten unterschiedlichen Alters nicht feststellen. Ebenfalls wurde keine Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Nodium beobachtet. Hinsichtlich der Mittelwerte und der Schwankungsbreite für die Capsaicinoidgehalte der Einzelfrüchte waren keine Jahreseffekte ersichtlich.

Der Literatur, die sich aufgrund der uneinheitlichen Probenvorbereitung der Früchte und unterschiedlicher Bezugsgrößen für den Capsaicinoidgehalt als kaum vergleichbar herausstellte, lässt sich nicht entnehmen, ob sich die Daten für die Akkumulationskurven der Capsaicinoide auf die Untersuchung von Einzelfrüchten je Ernte- oder Aufarbeitungstag oder auf zusammen aufgearbeitete Früchte stützen. Die Tatsache, dass in keiner dieser Veröffentlichungen auf die breite Heterogenität der Capsaicinoidgehalte in den einzelnen Früchten eingegangen wird und dass wiederholt ein Scharfstoffverlust mit fortschreitender Fruchtreife beschrieben wird, obwohl Capsaicinoide nur nach Zerstörung der Zellstrukturen abgebaut werden<sup>60</sup>, lassen den Verdacht aufkommen, dass diese Ergebnisse ein Zufallsresultat aufgrund der Probennahme sind. Für zukünftige Untersuchungen müssen die Heterogenität und die natürlichen Schwankungsbreiten bei der Versuchsplanung und Auswertung berücksichtigt werden.

*Kirschbaum*<sup>60</sup> beobachtete, dass der Capsaicinoidabbau erst nach Zerstörung der Zellstrukturen eintritt und abhängig von der Geschwindigkeit des Wasserverlustes verläuft, und deutete dies als Indiz für enzymatische Abbauprozesse, möglicherweise durch Peroxidasen.

Daher wurden Lagerungsbedingungen gewählt, die sich positiv oder negativ auf die Aktivität von Enzymen auswirkten und unter denen ein Scharfstoffabbau entsprechend dieser Wirkung zu beobachten war.

Eine vollständige Zerstörung des Fruchtgewebes ist eine weitere Voraussetzung für die Untersuchung des Scharfstoffabbaus in frischen Früchten, weil eine Abnahme des Capsaicinoidgehaltes bei einem Zerkleinerungsgrad von 2 cm großen Fruchtstücken nicht festgestellt werden konnte.

Bei für Peroxidasen günstigen Bedingungen nahm der Capsaicinoidgehalt unter Beibehaltung des Capsaicinoidmusters in zerkleinertem Fruchtmaterial rasch ab. So zeigte die Lagerung unter Stickstoff oder Sauerstoff, dass die Capsaicinoide nur in oxidativer Atmosphäre abgebaut werden. Die Temperatur spielte eine wichtige Rolle; bei niedrigen Kühlschrankschranktemperaturen liefen die enzymatischen Reaktionen nur verlangsamt ab.

Weiterhin reichten schon geringe Trocknungseffekte aus, um den Abbau zu verzögern und nach wenigen Tagen zu stoppen, da Enzyme auf eine hohe Wasseraktivität angewiesen sind. Hierbei zeigte sich, dass Capsaicinoide in zerkleinertem Fruchtma-

terial stärker durch Trocknungsverluste als durch niedrige Temperaturen stabilisiert werden. So waren die Capsaicinoide in zerkleinertem, gefriergetrocknetem Fruchtmaterial während der Lagerung stabil.

Der Vergleich der Lagerung geschälter Früchte mit der Lagerung ungeschälter Früchte belegte, dass Peroxidasen, die in intakten Früchten als Isoenzyme in verschiedenen Zellkompartimenten, vor allem aber in der äußeren Fruchtschale vorkommen, am Schärfeabbau von zerkleinerten Paprikafrüchten beteiligt sind.

Das Einfrieren frischer Früchte wirkte sich so stark nachteilig auf die Capsaicinoidabbauenden Enzyme aus, dass der Abbau von Scharfstoffen in zerkleinerten Früchten zeitnah an frisch geernteten Früchten untersucht werden muss.

Die Unterschiede im Capsaicinoidabbau lassen sich mit einem unterschiedlichen Schädigungsgrad der Peroxidasen, abhängig von der Vorbehandlung, erklären. Die Bestimmung der Gesamtperoxidasekonzentration durch einen Farbttest bestätigte je nach Vorbehandlung unterschiedlich starke Verluste an Enzymaktivität.

Durch die Verwendung von definiertem Material unterschiedlicher Altersstufen aus dem Eigenanbau im Gewächshaus zeigte sich, dass die Abbauintensität vom Fruchtalter abhängt. Junge Früchte zeigten den schnellsten und stärksten Schärfeabbau, der sich mit zunehmendem Fruchtalter verringerte, bis er nur noch geringfügig beobachtet werden konnte. Ältere Früchte, die bereits teilweise getrocknet waren, zeigten keinen Schärfeabbau mehr.

Dieses Ergebnis erklärt die Beobachtung, dass gekauftes Probenmaterial unterschiedliche Abbauraten aufwies, die vom Anfangsschärfegehalt unabhängig waren.

## 5 ARBEITSVORSCHRIFTEN

### 5.1 Reagenzien und Lösungsmittel

Aceton (VWR International, Darmstadt), Art.-Nr.: 1.00020.2500

Acetonitril HPLC (Acros Organics, Geel, Belgien), Art.-Nr.: 325730025

Citronensäure-Monohydrat (VWR International, Darmstadt), Art.-Nr.: 1.48550.1000

Dinatriumhydrogenphosphat p.a. (Roth, Karlsruhe), Art.-Nr.: P030.2

Essigsäure 100 % p.a. (VWR International, Darmstadt), Art.-Nr.: 1.00063.2500

Helium 5.0, > 99,999 Vol.% (Messer Griesheim, Krefeld), Art.-Nr.: 795 0 3036

Kaliumhydroxid (Roth, Karlsruhe), Art.-Nr.: 6751.1

Kaliumdihydrogenphosphat p.a. (Roth, Karlsruhe), Art.-Nr.: 3904.1

Lithiumchlorid p.a. (VWR International, Darmstadt), Art.-Nr.: 1.05679.1000

Magnesiumnitrat-Hexahydrat, reinst (VWR International, Darmstadt), Art.-Nr.: 1.05854.1000

Meerrettichperoxidase (Sigma, Taufkirchen), Art.-Nr.: P-6140

Methanol HPLC (Acros Organics, Geel, Belgien), Art.-Nr.: 268280025

Natriumchlorid Ph.Eur. (Roth, Karlsruhe), Art.-Nr.: P029.2

Pelargonsäurevanillylamid 98 % (N-Vanillylnonamid) (Serva, Heidelberg), Art.-Nr.: A 15791

Reinstwasser (Reinstwasseranlage MilliQ) (Millipore, Eschborn)

Sauerstoff 2.5, >/- 99,5 Vol.%, (Messer Griesheim, Krefeld), Art.-Nr.: 340010

Salzsäure 35 % p.a. (sds, Peypin, Frankreich), Art.-Nr.: 1010521

Stickstoff 5.0, > 99,999 Vol.% (Messer Griesheim, Krefeld), Art.-Nr.: 795 0 3056

3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (Sigma, Taufkirchen), Art.-Nr.: T2885

Wasserstoffperoxid 30 % (Fluka, Taufkirchen), Art.-Nr.: 95294

### 5.2 Glasgeräte und Laborbedarf

Bechergläser, 50, 100, 200, 800, 1000 und 2000 ml

Büchnertrichter, Durchmesser: 59 mm (Größe 1), 74 mm (Gr. 2), 94 mm (Gr. 2a)

Reaktionsgefäße aus Polypropylen, 1,5 ml (Brand, Wertheim)  
Einmalspritzen, diverse Größen  
Erlenmeyerkolben mit Schliff, 100, 250, 500 und 750 ml  
Exsiccatoren, Durchmesser: 100 mm und 250 mm  
Gemüseschäler (WMF, Geislingen/Steige)  
Kristallisierschalen, Durchmesser: 60 mm und 95 mm  
Messkolben, 10, 20, 25, 50, 100 und 250 ml  
Messpipette, 20 ml  
Mikrotiterplatten F-Form (Greiner, Frickenhausen)  
Pasteurpipetten, 150 und 230 cm  
Petrischalen  
pH-Teststreifen 4,5-10,0  
Plastikzentrifugenbecher, 250 ml  
Reagenzgläser mit Schraubgewinde und Verschlusskappen  
Reaktionsgefäßständer für 1,5 ml-Reaktionsgefäße  
Rundfilter 595, Durchmesser: 55 mm, 70 mm, 90 mm (Schleicher & Schüll, Dassel)  
Saugflaschen, 250 ml und 500 ml  
Schnelllauftrichter, diverse Größen  
Skalpell  
Spatel, diverse Größen  
Spritzenfilter aus PVDF, 0,45 µm  
Stopfen aus Glas oder Polyethylen, diverse Normschliffe  
Verschlussfolie für Laborbedarf aus Polyolefinen und Paraffinwachsen  
Vollpipetten, 5, 10 und 30 ml  
Zentrifugenröhrchen aus Polypropylen, 50 ml

### **5.3 Technische Laborgeräte**

$a_w$ -Wert-Messer (Lufft, Fellbach)  
Dispergierantrieb Ultra-Turrax Typ T 18/10 (Janke & Kunkel, Staufen)  
Dispergierwerkzeug Ultra-Turrax Typ S 25 KG – 18 G (Janke & Kunkel, Staufen)  
Gefriertrocknungsanlage Christ ALPHA (Christ, Osterode am Harz)  
Kolbenhubpipetten, variabel: 0,5-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl (Eppendorf, Hamburg)

Mikrotiterplatten-Lesegerät Model 680 (Bio-Rad, München)  
Schüttelwasserbad SW 1 mit Umwälzthermostat VC (Julabo, Seelbach)  
Stabmixer „Multiquick control plus“ Braun MR 505 (Braun, Kronberg)  
Universal-Zerkleinerer Moulinette (Moulinex-Samou, Radolfzell/Bodensee)  
Universal-Zerkleinerer Krups Speedy Plus Plus Type 718o - 70 (Krups, Solingen)  
Vakuum-Membranpumpe Typ ME 2 (vacuubrand, Wertheim)  
Vakuum-Membranpumpe Typ MZ 2C (vacuubrand, Wertheim)  
Vibrationsmischer für Reagenzgläser IKA-Vibro-Fix VF 2 (Janke & Kunkel, Staufen)

## **5.4 HPLC**

### **5.4.1 Chromatographische Ausrüstung**

HPLC-System: Solvent Delivery Module LC-6A, Sample Injector Module SIL-6A, System Controller SCL-6A (jeweils Shimadzu, Duisburg)

Detektor: Fluoreszenz-HPLC-Monitor RF 551 mit 12 µl Durchflusszelle (Shimadzu, Duisburg)  $\lambda_{EX} = 280 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{EM} = 320 \text{ nm}$

Trennsäule: 250 x 4 mm LiChroCART<sup>®</sup> LiChrospher<sup>®</sup> RP-18 (5 µm, endcapped) VWR International (Darmstadt), Art.-Nr.: 1.50995 mit Vorsäule RP-18, 4 x 4 mm, VWR International (Darmstadt), Art.-Nr.: 1.50962.0001

Datenaufnahme: APEX<sup>®</sup> Chromatography-Workstation, Model M625-15, Version 3.10a (Autochrom Inc.)

Eluent: Acetonitril/Wasser/Essigsäure (940/1060/10, v/v/v), ca. 5 min mit Helium entgast

Fluss: 1 ml/min

### 5.4.2 Quantifizierung

Die Quantifizierung<sup>60</sup> der einzelnen Hauptcapsaicinoide erfolgt über die Kalibrierung mit der externen Standardsubstanz Pelargonsäurevanillylamid (PSVA).

Die Stamm- und Standardlösungen werden alle in Acetonitril/Wasser (1 + 1, v + v) gelöst und verdünnt.

35 mg ( $\pm 0,1$  mg) PSVA werden in 100 ml des Lösungsmittels gelöst. Hiervon werden 5 ml auf 250 ml verdünnt. Von dieser Stammlösung ( $\omega = 7,00 \mu\text{g/ml}$ ) ausgehend wird eine geeignete Verdünnungsreihe zur Kalibrierung hergestellt.

Das nachfolgende Pipettierschema (Tabelle 9) zeigt die in der Regel zu verwendenden Verdünnungsschritte zur Herstellung der Standardlösungen, von denen meistens 20  $\mu\text{l}$  injiziert werden. Der lineare Kalibrierbereich sollte mindestens 5 Verdünnungsstufen umfassen.

Volumen der Stamm- lösung [ml]	Verdünnung auf ... ml	Konzentration $\omega$ [ $\mu\text{g/ml}$ ]	Konzentration c [pmol/20 $\mu\text{l}$ ]
5	250	0,14	<b>9,5</b>
5	100	0,35	<b>23,9</b>
5	50	0,70	<b>47,7</b>
5	25	1,40	<b>95,4</b>
5	20	1,75	<b>119,3</b>
5	10	3,50	<b>238,6</b>

Tabelle 9: PSVA-Standardlösungen für die Kalibrierreihe

Die Konzentrationen der Standardlösungen können entsprechend der Empfindlichkeit des verwendeten Fluoreszenzdetektors anders gewählt werden. Meistens werden während der Chromatographie einer Untersuchungsreihe abwechselnd je 1-2 Standardlösungen und nachfolgend 2-3 Probelösungen injiziert.

### 5.4.3 Berechnung des Capsaicinoidgehaltes

Die Quantifizierung von Capsaicin, Dihydrocapsaicin und Nordihydrocapsaicin erfolgt über die nach 5.4.2 ermittelte Kalibriergerade. Die Konzentration an Capsaicin,

Dihydrocapsaicin und Nordihydrocapsaicin wird zunächst als Stoffmengenkonzentration an PSVA in pmol pro Injektionsvolumen ausgedrückt. Da sich bei allen Capsaicinoiden aufgrund des identischen fluoreszierenden Vanillylrestes dieselbe molare Fluoreszenzausbeute ergibt, kann unter Berücksichtigung der Molmassen durch Umrechnungsfaktoren die Konzentration der einzelnen Capsaicinoide berechnet werden.

Als molare Massen werden hierbei folgende Werte zu Grunde gelegt:

Capsaicin	305,4 g/mol
Dihydrocapsaicin	307,4 g/mol
Nordihydrocapsaicin	293,4 g/mol

Die Gehalte der einzelnen Capsaicinoide - angegeben als Massenanteil in µg/g oder mg/kg Probe – werden nach folgender Formel berechnet:

$$\omega_n = \frac{(y_n - b) \cdot V_G \cdot MM_n}{V_i \cdot m \cdot E \cdot 1000}$$

- $\omega_n$  = Konzentration der Einzelkomponenten [µg/g Probe]  
 $y_n$  = Peakfläche der Einzelkomponenten [Integriereinheiten (Fläche)]  
 $b$  = Ordinatenabschnitt der Kalibriergeraden [Integriereinheiten (Fläche)]  
 $V_G$  = Gesamtvolumen<sup>‡‡</sup> der Probelösung [ml]  
 $MM_n$  = Molmasse der Einzelkomponenten [g/mol]  
 $V_i$  = Injektionsvolumen [µl]  
 $m$  = Steigung der Kalibriergeraden [Integriereinheiten (Fläche)/pmol]  
 $E$  = Einwaage der Probe [g]

Der Gesamtgehalt  $\omega_G$  [µg/g] oder [mg/kg] berechnet sich als Summe der Konzentration für Capsaicin, Dihydrocapsaicin und Nordihydrocapsaicin:

$$\omega_G [\mu\text{g/g}] = \sum_n \omega_n$$

<sup>‡‡</sup> Das Gesamtvolumen ist bei einer unverdünnten Lösung mit 100 ml anzugeben. Bei einer z.B. 1:5 verdünnten Probelösung wird hierfür mit 500 ml gerechnet.

### **5.5 Lagerung von 2 cm großen Stücken und ihrer zugehörigen Hälften**

Pro Aufarbeitungstag und Aufarbeitung wurden je 5 ganze Früchte aus einer größeren Probenmenge entnommen. Die Fruchstiele wurden bis kurz vor dem Ansatz abgeschnitten. Nur Früchte mit zwei Scheidewänden wurden verwendet. Anschließend wurden die 5 Früchte mit einem Skalpell so halbiert, dass jede Hälfte je eine Scheidewand aufwies. Die eine Hälfte wurde Gruppe A, die andere Hälfte Gruppe B zugeteilt und das Gewicht der Gruppe wurde bestimmt. Die eine Gruppe wurde als Hälften in offenen Petrischalen (Batch A) gelagert. Die Hälften der anderen zugehörigen Gruppe (Batch B) wurden mit einem Skalpell in ca. 2 cm lange Stücke geschnitten und in offenen Petrischalen unter denselben Bedingungen wie Batch A gelagert. Die Lagerung erfolgte in den Sommermonaten auf der Fensterbank (Himmelsrichtung: Süd-Ost).

Nach der Lagerung wurden die halbierten Früchte (Batch A) mit einem Skalpell in ca. 2 cm lange Stücke in ein 800 ml Becherglas geschnitten. Die 2 cm langen Fruchtstücke (Batch B) wurden von der Petrischale ebenfalls in ein 800 ml Becherglas überführt. Vor der weiteren Aufarbeitung musste der durch Wasserverlust bedingte Gewichtsverlust durch die entsprechende Wassermenge ausgeglichen werden. Nach einer Einweichzeit von 10-15 min wurden 100 ml Methanol zugefügt und dieses Gemisch mit einem Stabmixer 1 min vorzerkleinert. Nach Abspülen der Becherglaswandung und des Stabmixers mit ca. 10 Pasteurpipettenfüllungen Methanol erfolgte die weitere Aufarbeitung entsprechend 5.8.

### **5.6 Probenaufarbeitung: Lagerstudien mit zerkleinerten Früchten**

Aus einer größeren Menge frischer Früchte wurde die benötigte Anzahl an Früchten entnommen. Mit Erde verschmutzte Früchte wurden mit einem feuchten Papiertuch gereinigt. Nachdem die Fruchstiele bis kurz vor dem Ansatz abgeschnitten worden waren, wurden die Früchte nacheinander mit einem Küchenmesser oder Skalpell in ca. 2 cm lange Stücke direkt in die Schale eines Universal-Zerkleinerers (im Abzug, mit Handschuhen) geschnitten; pro Moulinettenfüllung etwa 50 bis 70 g. Auf die Zerkleinerungstaste wurde zehnmal gedrückt, um ein gutes Verwirbeln und

Zerkleinern der Fruchtstücke zu gewährleisten. Danach wurde der Deckel wegen des scharfen, beißenden Geruchs vorsichtig geöffnet.

### **5.6.1 Zugabe von 0,3 mmolarer Wasserstoffperoxid-Lösung**

Es wurden ca. 200 g gekaufter, frischer Früchte unter Zugabe von 20 ml 0,3 mmol Wasserstoffperoxidlösung mit der Moulinette zerkleinert. Das gesamte zerkleinerte Fruchtmaterial wurde in ein 1000 ml Becherglas (im Eisbad) überführt, gründlich durchmischt, zu je 10 g  $\pm$  0,5 g in 100 ml Bechergläser eingewogen im nicht evakuierten Exsiccator gelagert.

Für die Nullwertbestimmung wurden dreimal je 10 g in Zentrifugenbecher aus Polypropylen eingewogen und sofort weiter aufgearbeitet.

Die weitere Aufarbeitung erfolgte entsprechend 5.8.

Die Kontrollversuche wurden mit ca. 200 g gekaufter, frischer Früchte

- a) unter Zugabe von 20 ml VE-Wasser sowie
- b) ohne Zugabe von Wasser oder Wasserstoffperoxidlösung durchgeführt.

### **5.6.2 Lagerung unter Stickstoff und Sauerstoff**

Es wurde ca. 1 kg gekaufter, frischer Früchte mit der Moulinette zerkleinert. Das gesamte zerkleinerte Fruchtmaterial wurde in ein 2000 ml Becherglas (im Eisbad) überführt, mit einem Spatel oder Löffel gründlich durchmischt, zu je 10 g  $\pm$  0,5 g in 100 ml Bechergläser eingewogen und im Exsiccator als geschlossenen Behälter (in der Regel ohne Trocknungsmittel) unter den gewünschten Bedingungen (siehe 5.6.2.1 - 5.6.2.3) gelagert.

Für die Nullwertbestimmung wurden dreimal 10 g in Zentrifugenbecher aus Polypropylen eingewogen und sofort weiter aufgearbeitet.

**5.6.2.1 Bedingung: Stickstoff (25 °C) / Sauerstoff (25 °C)**

Nachdem die Bechergläser mit dem Probenmaterial auf zwei große Exsiccatoren verteilt worden waren, wurden diese mittels Membran-Vakuumpumpe bis 30 mbar evakuiert und anschließend einerseits mit Sauerstoff und andererseits mit Stickstoff bis zum Erreichen des Raumdruckes befüllt. Dieses Vorgehen wurde einmal wiederholt. Die Befüllung mit Sauerstoff erfolgte mit Hilfe eines Luftballons, die mit Stickstoff mit Hilfe einer minimalisierten Vakuumanlage inklusive Gasblasenzähler. Abschließend wurden beide Exsiccatoren auf der Arbeitsbank abgestellt.

Für die tägliche Entnahme der aufzuarbeitenden Proben wurden die Exsiccatorendeckel vorsichtig angehoben, um danach die Exsiccatoren erneut zu evakuieren und mit dem entsprechenden Gas zu befüllen (zweimal).

Die weitere Aufarbeitung der Proben erfolgte entsprechend 5.8.

**5.6.2.2 Bedingung: Stickstoff (4 °C / 25 °C) / Sauerstoff (4 °C / 25 °C)**

Behandelt wurden die Exsiccatoren analog zu 5.6.2.1 mit dem Unterschied, dass vier große Exsiccatoren benötigt wurden:

1. Stickstoff 4 °C
2. Stickstoff 25 °C
3. Sauerstoff 4 °C
4. Sauerstoff 25 °C.

Der durchschnittliche Wert von 25 °C wurde durch das Abstellen der beiden Exsiccatoren auf der Laborbank bei Raumtemperatur erzielt. Die 4 °C wurden durch die Unterbringung der Exsiccatoren im Kühlschrank eingehalten.

Die weitere Aufarbeitung der Proben erfolgte entsprechend 5.8.

**5.6.2.3 Bedingung: Stickstoff (25 °C) / Sauerstoff (4 °C / 25 °C) bei eingestellter Luftfeuchte**

Es wurden zwei große Exsiccatoren:

1. Sauerstoff 4 °C
2. Sauerstoff 25 °C

und zehn kleine Exsiccatoren:

3.-12. Stickstoff 25 °C

verwendet. Am Boden der großen Exsiccatoren befanden sich Kristallisierschalen mit einem Durchmesser von 95 mm, am Boden der kleinen Exsiccatoren Kristallisierschalen mit einem Durchmesser von 60 mm mit gesättigten Salzlösungen, um die entsprechende Luftfeuchte einzustellen.<sup>154</sup>

Für die drei Messreihen mit den Luftfeuchten 98 %, 52-54 % und 12 % ± 2 % (bei 5 °C und 25 °C) wurden entsprechend Tabelle 10 folgende Salze, Einwaagen und Volumina an VE-Wasser gewählt.

Messreihe	Salz (Löslichkeit in 100 g H <sub>2</sub> O) Einwaage [g] / Volumen [ml]
Luftfeuchte 98 %:	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (22 g)
Kristallisierschalen (Ø 60 mm)	8,8 – 8,9 g / 40 ml
Kristallisierschalen (Ø 95 mm)	44,1 – 44,4 g / 200 ml
Luftfeuchte 52-54 %:	Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> x 6 H <sub>2</sub> O (71 g)
Kristallisierschalen (Ø 60 mm)	29,2 – 30,0 g / 40 ml
Kristallisierschalen (Ø 95 mm)	99,0 – 100,0 g / 140 ml
Luftfeuchte 12 %:	LiCl x 1 H <sub>2</sub> O (83 g)
Kristallisierschalen (Ø 60 mm)	29,1 – 30,6 g / 30 ml
Kristallisierschalen (Ø 95 mm)	99,2 – 99,7 g / 120 ml

**Tabelle 10: Gesättigte Salzlösungen zur Einstellung einer definierten Luftfeuchte**

Die Salzlösungen mussten aus chemisch reinen Salzen mit Reinwasser (destilliertes oder deionisiertes Wasser) hergestellt werden. Um eine homogene Salzlösung zu bilden, wurden die Salzkristalle in kochendes Wasser bis zu einer annähernden Sättigung gegeben und die Lösung anschließend langsam auf die gewünschte Temperatur abgekühlt.

Der Sättigungsgrad der wässrigen Salzlösungen war durch Kontrolle des Salzüberschusses ohne Öffnen der Klimakammer zu überwachen. Der Salzüberschuss musste von der Lösung völlig überdeckt sein.

Die Exsiccatoren wurden analog zu 5.6.2.1 evakuiert und begast.

Die weitere Aufarbeitung der Proben erfolgte entsprechend 5.8.

### **5.6.3 Lagerung von gefriergetrocknetem Fruchtmaterial**

Es wurde ca. 1 kg gekaufter, frischer Früchte mit der Moulinette zerkleinert. Das gesamte zerkleinerte Fruchtmaterial wurde in ein 2000 ml Becherglas (im Eisbad) überführt, gründlich durchmischt, zu je 10 g  $\pm$  0,1 g in 50 ml Zentrifugenröhrchen aus Polypropylen eingewogen.

Für die Nullwertbestimmung wurden dreimal je 10 g in Zentrifugenbecher aus Polypropylen eingewogen und sofort weiter aufgearbeitet.

Die einzelnen Zentrifugenröhrchen wurden mit dem enthaltenen Probenmaterial 1 min lang in flüssigen Stickstoff getaucht und anschließend an die Gefriertrocknungsanlage angeschlossen. Die Proben wurden 23 Stunden lyophilisiert. In den ersten 3-4 Stunden wurde ca. alle 20 min ein kleiner, mit flüssigem Stickstoff befüllter Dewar an die Zentrifugenröhrchen, die ununterbrochen weiter gefriergetrocknet wurden, gehalten, damit das Probenmaterial nicht auftaut. Nach 23 Stunden wurde ein Trocknungsverlust von 80-90 % gemessen.

Die gefriergetrockneten Proben wurden für die Lagerung in 50 oder 100 ml Bechergläser überführt, entsprechend der gewählten Lagerungsbedingung präpariert und im nicht evakuierten Exsiccator gelagert.

Für die Nullwertbestimmung wurden gefriergetrocknete Proben in Zentrifugenbecher aus Polypropylen überführt und sofort weiter nach 5.8 aufgearbeitet.

#### **5.6.3.1 Bedingung: Einstellung eines definierten $a_W$ -Wertes**

Der  $a_W$ -Wert des gefriergetrockneten Probenmaterials wurde entsprechend Kapitel 5.9 bestimmt. Da der  $a_W$ -Wert kleiner als 0,40 war und die Skala des  $a_W$ -Wertmessers nur von 0,40 bis 1,00 reicht, mussten 200  $\mu$ l VE-Wasser zu jeder einzelnen Probe zugefügt werden, um den  $a_W$ -Wert schließlich auf – messbare – 0,66 zu erhöhen.

Die weitere Aufarbeitung der Proben erfolgte entsprechend 5.8.

**5.6.3.2 Bedingung: Wiederherstellung der Ausgangseinwaage**

Zu den einzelnen gefriergetrockneten Proben wurde entsprechend des Wasserverlustes durch die Gefriertrocknung die entzogene Menge an VE-Wasser zugefügt.

Die weitere Aufarbeitung der Proben erfolgte entsprechend 5.8.

**5.6.3.3 Bedingung: Zugabe von 0,1 mmolarer Wasserstoffperoxidlösung**

Zu den einzelnen gefriergetrockneten Proben wurde soviel 0,1 mmolare Wasserstoffperoxidlösung hinzudotiert, bis das Gewicht der Ausgangseinwaage (vor der Gefriertrocknung) wiedererlangt war. Da der prozentuale Trocknungsverlust innerhalb einer Versuchsreihe identisch war, ergab sich somit eine einheitliche H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Endkonzentration bei den einzelnen Proben der gleichen Versuchsreihe.

Die weitere Aufarbeitung erfolgte entsprechend 5.8.

**5.6.4 Entfernung der Schale**

Ca. 1 kg gekaufte, frische Früchte wurde in zwei Gruppen à 500 g aufgeteilt. Bevor die Früchte mit der Moulinette zerkleinert werden sollten, wurde die Fruchtschale mit einem Gemüseschäler entfernt. Es wurden hierfür große, dickwandige Früchte gewählt, die keine Vertiefungen und Trocknungserscheinungen aufweisen durften, um das Schälen nicht zu erschweren. Geringe Verluste des sich unter der Schale befindenden Fruchtfleisches (Mesokarp) wurden akzeptiert, so dass die entfernten Schalen eine Dicke von 0,5-1 mm besaßen.

Die Schalen der ersten Gruppe wurden verworfen und die geschälten Früchte mit der Moulinette zerkleinert.

Die Schalen der zweiten Gruppe wurden aufbewahrt. Die geschälten Früchte und die Schalen wurden getrennt voneinander mit der Moulinette zerkleinert. Erst im Anschluss wurden sie wieder miteinander vermischt.

Die beiden Gruppen mit dem zerkleinerten Fruchtmaterial wurden jeweils in ein 2000 ml Becherglas (im Eisbad) überführt, gründlich durchmischt, zu je 10 g ± 0,5 g in 100 ml Bechergläser eingewogen im nicht evakuierten Exsiccator gelagert.

Für die jeweilige Nullwertbestimmung wurden von beiden Gruppen dreimal je 10 g in Zentrifugenbecher aus Polypropylen eingewogen und sofort weiter aufgearbeitet.

Die weitere Aufarbeitung erfolgte entsprechend 5.8.

Der Kontrollversuch wurde mit ca. 500 g ungeschälter Früchte durchgeführt.

### **5.6.5 Lagerung bei unterschiedlichen Temperaturen**

Es wurde ca. 1 kg gekaufter, frischer Früchte mit der Moulinette zerkleinert, in ein 2000 ml Becherglas (im Eisbad) überführt, gründlich durchmischt und zu je 10 g  $\pm$  0,5 g in 100 ml Bechergläser eingewogen.

$\frac{1}{3}$  der Proben wurde im thermostatisierten Wasserschüttelbad platziert, das auf 27 °C und die niedrigste Schüttelstufe eingestellt worden war. Über die Bechergläser wurde Parafilm mit einem kleinen Loch gespannt, um Trocknungsverluste und Kondenswasser gering zu halten. Außerdem mussten die Bechergläser beschwert werden, um nicht aufzuschwimmen.

Die weiteren  $\frac{2}{3}$  der Proben wurden auf zwei nicht evakuierte Exsiccatoren verteilt. Einer der Exsiccatoren blieb im Labor (22 °C) und der andere Exsiccator wurde in einem unbeheizten Raum konstanter Temperatur (17 °C) untergebracht.

Für die Nullwertbestimmung wurden dreimal je 10 g in Zentrifugenbecher aus Polypropylen eingewogen und sofort weiter aufgearbeitet.

Die weitere Aufarbeitung erfolgte entsprechend 5.8.

### **5.6.6 Einfrieren**

Es wurde ca. 1 kg gekaufter, frischer Früchte in flüssigen Stickstoff getaucht, dann

- a) sofort wieder aufgetaut oder
- b) 1 Woche im Tiefkühlschrank aufbewahrt und

anschließend im angetauten Zustand mit der Moulinette zerkleinert. Die beiden Gruppen mit dem zerkleinerten Fruchtmaterial wurden jeweils in ein 2000 ml Becherglas (im Eisbad) überführt, gründlich durchmischt, zu je 10 g  $\pm$  0,5 g in 100 ml Bechergläser eingewogen im nicht evakuierten Exsiccator gelagert.

Für die Nullwertbestimmung wurden dreimal je 10 g in Zentrifugenbecher aus Polypropylen eingewogen und sofort weiter aufgearbeitet.

Die weitere Aufarbeitung erfolgte entsprechend 5.8.

Der Kontrollversuch wurde mit ca. 500 g nicht tiefgekühlter Früchte durchgeführt.

#### **5.6.7 Lagerung selbst angebaute Früchte**

Es wurden 150-200 g frischer Früchte mit der Moulinette zerkleinert. Das gesamte zerkleinerte Fruchtmaterial wurde in ein 500 ml Becherglas (im Eisbad) überführt, gründlich durchmischt, zu je 10 g  $\pm$  0,5 g in 100 ml Bechergläser eingewogen und im nicht evakuierten Exsiccator gelagert.

Für die Nullwertbestimmung wurde zweimal je 10 g in einen Plastikzentrifugenbecher eingewogen und sofort weiter aufgearbeitet.

Die weitere Aufarbeitung erfolgte entsprechend 5.8.

#### **5.7 Aufarbeitung selbst angebaute Früchte**

Es wurden Einzel Früchte untersucht: Fruchtalter [d nach Blütenöffnung], Position am Strauch [Nodium], Fruchtgewicht [g], Fruchtlänge [cm] und Farbe [grün – rot] wurden notiert. Nachdem die Fruchtstiele bis kurz vor dem Ansatz abgeschnitten worden waren, wurden die Früchte mit einem Küchenmesser oder Skalpell in maximal 0,5 cm lange Stücke direkt in Plastikzentrifugenbecher geschnitten (mit Handschuhen), gewogen und 30 ml Methanol zugefügt.

Die weitere Aufarbeitung erfolgte entsprechend 5.8.

## 5.8 Weitere Aufarbeitung

Bei gelagerten und gefriergetrockneten Proben wurde vor der weiteren Aufarbeitung der Wasserverlust durch Zugabe der entsprechenden Wassermenge ausgeglichen.

Es wurden zu den Referenzwerten „Tag 0“, den gelagerten sowie den gefriergetrockneten Proben (10 g ± 0,5 g) je 30 ml Methanol gegeben. Da sich die Extraktion mit 30 ml Methanol auf eine Einwaage von 10 g bezieht, entspricht dies bei einem Wassergehalt der Früchte von ca. 90 % einer Konzentration des Extraktionsmittels von ca. 75 % Methanol.

Bei den Einzelfrüchten musste berücksichtigt werden, dass ihr Fruchtgewicht weniger als 10 g betrug. Die Einzelfrüchte wurden entsprechend ihres Fruchtgewichts in Gruppen eingeteilt. Für jede Gruppe wurden Wasser-Methanol-Gemische gemäß Tabelle 11 hergestellt, von denen für die Extraktion jeweils 30 ml eingesetzt wurden. Unter Berücksichtigung des fruchteigenen Wassergehaltes (ca. 90 %) ergab sich in dem Extraktionsgemisch eine Methanolkonzentration von ca. 75 %.

Fruchtgruppe		Wasser-Methanol-Gemisch (= Extraktionslösung)			Extraktionsgemisch (= 30 ml Extraktionslösung + Frucht)
Fruchtgewicht	Wassergehalt [g]	V (Wasser) [ml]	V (Methanol) [ml]	Methanol konz. [%]	Methanolkonz. [%]
≤ 1 g	≤ 0,9	9	30	77	ca. 75
1-2 g	1,0-1,8	8	30	79	ca. 75
2-3 g	1,9-2,7	7	30	81	ca. 75
3-4 g	2,8-3,6	6	30	83	ca. 75
4-5 g	3,7-4,5	5	30	86	ca. 75

Tabelle 11: Wasser-Methanol-Gemische für die Extraktion von Einzelfrüchten

Im Anschluss wurde das Fruchtmaterial vor allem zur Zerkleinerung der Samen mit Hilfe eines Ultra-Turrax-Stabes unter folgenden Bedingungen zu einer Pülpe fein zerkleinert: Stufe des Stromreglers 4,5-5; 1 min. Der Ultra-Turrax-Stab wurde mit 5-6 Pasteurpipettenfüllungen Methanol so abgespült, dass das Methanol mit der Probelösung aufgefangen werden konnte, und anschließend gründlich unter fließendem, heißem Wasser und Acetonnachspülung gereinigt.

Die Pülpe wurde 30 min (Stoppuhr) stehen gelassen und dann mit Hilfe eines Büchnertrichters, in dem ein mit Methanol angefeuchtetes Filterpapier lag, abfiltriert. Nachdem die Pülpe in den Trichter gegeben worden war, wurde der Plastikzentrifugenbecher mit Methanol nachgespült. Durch Anlegen eines Vakuums wurde der letzte Rest Flüssigkeit entfernt. Der Auslauf des Trichters wurde mit einer Pasteurpipettenfüllung Methanol so abgespült, dass das Methanol mit der Saugflasche aufgefangen werden konnte. Der Inhalt der Saugflasche wurde mit Hilfe eines Schnellauftrichters in einen Messkolben überführt, die Saugflasche gründlich mit Methanol nachgespült und ebenfalls in den Messkolben bis kurz unterhalb des Eichstriches überführt. Der Messkolben wurde anschließend mit Methanol bis zum Eichstrich aufgefüllt. Diese Lösung wurde unverdünnt oder mit Methanol/Wasser (70/30, v/v) verdünnt für die chromatographische Bestimmung eingesetzt.

In Tabelle 12 sind die zu verwendenden Größen der Arbeitsgeräte, Volumina und Verdünnungen aufgeführt.

Kapitel	5.5	5.6	5.7
<b>Messreihe</b>	<b>Lagerung 2 cm langer Stücke und ihrer zugehörigen Hälften</b>	<b>Lagerstudien mit zerkleinerten Früchten</b>	<b>Aufarbeitung selbst angebauter Früchte</b>
Büchnertrichter: <i>Größe [Nr.]</i>	2a	2	1
Filterpapier: <i>Durchmesser [mm]</i>	90	70	55
Nachspüllösung: <i>Volumen [ml]</i>	zweimal 30	zweimal 15	zweimal 15
Saugflasche: <i>Größe [ml]</i>	500	250	250
Messkolben: <i>Größe [ml]</i>	250	100	100
Verdünnung	1:5 1:10	unverdünnt 1:5 selten 1:10	unverdünnt 1:5 1:10
Injektionsvolumen [ $\mu$ l]	20	20	20

**Tabelle 12: Weitere Aufarbeitung: Größen, Volumina, Verdünnungen**

(Wegen der breiten Heterogenität im Capsaicinidgehalt der Früchte müssen ggf. andere als die oben genannten Verdünnungen und Injektionsvolumina gewählt werden.)

### 5.9 Messung des $a_W$ -Wertes

#### Eichung des $a_W$ -Wert-Messgerätes bei 20 °C:

Vier Fließscheiben wurden in den Probenbehälter gelegt. Eine gesättigte Bariumchlorid-Lösung wurde ebenfalls in den Probenbehälter gegeben, bis die Scheiben tropfnass waren. Der Messkopf wurde auf den Probenbehälter gesetzt und durch Drehen verspannt. Nach drei Stunden wurde der Messkopf auf den  $a_W$ -Wert 0,90 justiert.

#### Messen des $a_W$ -Wertes der Proben bei 15 °C bis 25 °C:

20 g des Probengutes oder 20 ml einer gesättigten Salzlösung wurden in den Probenbehälter gegeben. Der geeichte Messkopf wurde aufgesetzt und verspannt. Nach drei Stunden wurde der  $a_W$ -Wert abgelesen. Bei von 20 °C abweichenden Temperaturen war der abgelesene  $a_W$ -Wert entsprechend Tabelle 13 zu korrigieren.

15 °C = - 0,010	20 °C = $\pm$ 0,000	21 °C = + 0,002
16 °C = - 0,008		22 °C = + 0,004
17 °C = - 0,006		23 °C = + 0,006
18 °C = - 0,004		24 °C = + 0,008
19 °C = - 0,002		25 °C = + 0,010

Tabelle 13: Korrekturfaktoren für  $a_W$ -Wert-Messungen

## **5.10 Peroxidasetest**

### **5.10.1 Phosphatpuffer (10 mmol/L; pH 7,2)**

1,47 g Dinatriumdihydrogenphosphat,  
0,43 g Kaliumdihydrogenphosphat und  
7 g Natriumchlorid

wurden in einen 1 L Messkolben eingewogen. Der Kolben wurde mit Reinstwasser bis auf 1 L aufgefüllt.

### **5.10.2 Citratpuffer (210 mmol/L; pH 4) mit Wasserstoffperoxid (0,315 mmol/L)**

4,4 g Citronensäure-Monohydrat,  
30 ml wässrige Kaliumhydroxidlösung (1 mol/L) und  
32,5 µl Wasserstoffperoxid (3 %)

wurden in einen 100 ml Messkolben eingewogen. Der Kolben wurde mit Reinstwasser bis auf 100 ml aufgefüllt.

### **5.10.3 Farbreagenz**

50 mg Tetramethylbenzidin wurden in einen 10 ml Messkolben eingewogen und in 1 ml Aceton gelöst. Der Kolben wurde mit Methanol bis auf 10 ml aufgefüllt.

### **5.10.4 Kalibriergerade mit Meerrettichperoxidase**

1 µl einer kristallinen Standard-Suspension mit der Konzentration von 13 mg Protein/ml wurde auf 10 ml mit Phosphatpuffer 1:10 000 verdünnt.

Von dieser Stammlösung wurden 100 µl auf 1 ml verdünnt, um den Standard Nr. 1 zu erhalten. Vom Standard 1 ausgehend wurde durch Verdünnung mit Phosphatpuffer eine Kalibrierreihe hergestellt. Für die Verdünnungslösungen boten sich 1,5 ml-Reaktionsgefäße an, die zwischen den einzelnen Verdünnungsschritten ca. 2 Sekunden auf den Vibrationsmischer gehalten wurden.

Das nachfolgende Pipettierschema (Tabelle 14) zeigt die in der Regel verwendeten Verdünnungsschritte zur Herstellung der Standardlösungen, von denen 5 µl für den Enzymtest eingesetzt wurden. Der lineare Kalibrierbereich sollte mindestens 4 Verdünnungsstufen umfassen.

Standard Nr.	Volumen (Standard) [ml]	Volumen (Phosphatpuffer) [ml]	Konzentration [µg Protein / ml]	Konzentration [pg Protein / 5 µl]
1	1 ml Stammlösung	9,0 ml	0,130	<b>750,0</b>
2	0,5 ml Standard 1	0,5 ml	0,075	<b>375,0</b>
3	0,5 ml Standard 2	0,5 ml	0,038	<b>187,5</b>
4	0,5 ml Standard 1	0,5 ml	0,025	<b>125,0</b>
5	0,5 ml Standard 3	0,5 ml	0,019	<b>93,8</b>
6	0,5 ml Standard 4	0,5 ml	0,013	<b>62,5</b>
7	0,5 ml Standard 5	0,5 ml	0,009	<b>46,9</b>

**Tabelle 14: Meerrettichperoxidase: Standardlösungen für die Kalibrierreihe**

### 5.10.5 Probenaufarbeitung

500 g gekaufte Früchte wurden folgendermaßen vorbehandelt:

1. 100 g frische Früchte (Nr. I) wurden mit der Moulinette zerkleinert.
2. 100 g Früchte wurden geschält. Die geschälten Früchte (Nr. II) sowie die Schalen (Nr. III) wurden getrennt voneinander mit der Moulinette zerkleinert.
3. 100 g Früchte wurden in flüssigen Stickstoff getaucht. Das erste Drittel dieser Früchte wurde sofort wieder aufgetaut (Nr. IV), das zweite Drittel wurde 1,5 Wochen (Nr. V) und das dritte Drittel 4 Wochen im Tiefkühlschrank (TK) aufbewahrt (Nr. VI). Die Früchte aller drei Gruppen wurden nach dem Auftauen mit der Moulinette zerkleinert.
4. 100 g Früchte wurden mit der Moulinette zerkleinert, in 4 Zentrifugenröhrchen à 10 g eingewogen und danach 23 h gefriergetrocknet. Nach der Gefrier Trocknung (GT) wurde die dem Trocknungsverlust entsprechende Wassermenge in zwei Zentrifugenröhrchen sofort (Nr. VII) und in das dritte und vierte

Zentrifugenröhrchen nach 4 Wochen Lagerung bei Raumtemperatur (Nr. VIII) hinzu dotiert.

Zur Zerkleinerung mit der Moulinette:

Nachdem die Fruchtstiele bis kurz vor dem Ansatz abgeschnitten worden waren, wurden die Früchte nacheinander mit einem Küchenmesser oder Skalpell in ca. 2 cm lange Stücke direkt in die Schale eines Universal-Zerkleinerers (im Abzug, mit Handschuhen) geschnitten. Auf die Zerkleinerungstaste wurde zehnmals gedrückt, um ein gutes Verwirbeln und Zerkleinern der Fruchtstücke zu gewährleisten. Danach wurde der Deckel wegen des scharfen, beißenden Geruchs vorsichtig geöffnet.

Das mit der Moulinette zerkleinerte Probenmaterial wurde in Zentrifugenbecher aus Polypropylen entsprechend Tabelle 15 eingewogen (Doppelbestimmung).

Vorbehandlung		Einwaage [g]
I	frisch	4 – 5
II	geschält	7 – 8
III	Schale	3 – 4
IV	nur flüssiger Stickstoff	4 – 5
V	TK: 1,5 Wochen	5 – 6
VI	TK: 4 Wochen	6 – 7
VII	GT	4
VIII	GT: 4 Wochen	4

**Tabelle 15: Peroxidasetest: Probeneinwaage**

Nachdem die pH-Werte der Proben überprüft worden waren, wurden zu den eingewogenen Proben 30,0 ml Phosphatpuffer pipettiert. Im Anschluss wurde das Fruchtmaterial vor allem zur Zerkleinerung der Samen mit Hilfe eines Ultra-Turrax-Stabes unter folgenden Bedingungen zu einer Pülpe fein zerkleinert: Stufe des Stromreglers 4,5–5; je ca. 1 Minute. Der Ultra-Turrax-Stab wurde danach gründlich unter fließendem, heißem Wasser und Acetonnachspülung gereinigt. Die Pülpe wurde wenige Minuten stehen gelassen, bis sich der Eiweißschaum abgesetzt hatte, und dann mit Hilfe eines Büchnertrichters, in dem ein mit Phosphatpuffer

angefeuchtetes Filterpapier lag, abfiltriert. 5 µl des Filtrats konnten nach Membranfiltration direkt für den Enzymtest eingesetzt werden.

### **5.10.6 Testdurchführung**

Unmittelbar vor dem Test wurden Citratpuffer (mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) und Farbreagenz (= Substrat) im Verhältnis 100:1 zusammen gegeben. Je 100 µl dieses Gemisches wurden in die Kavitäten der Mikrotiterplatte pipettiert. Anschließend wurden in jede Kavität je 5 µl Probelösung oder Standardlösung hinzu gegeben. Nach exakt 5 min Reaktionszeit (Stoppuhr) wurde die Reaktion unter Zugabe von 100 µl 1 mol/L Salzsäure gestoppt. Mit Hilfe eines Mikrotiterplatten-Photometers wurden die Extinktionen der Standard- und Probelösungen ermittelt.

In gleicher Weise wurde ein Blindwert (100 µl Citratpuffer ohne H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> / Farbreagenz 100:1) für die Proben mitgeführt. Die Extinktionen der Blindwerte wurden von denen der Probenwerte subtrahiert. Anschließend konnte die Enzymkonzentration über die Kalibriergerade berechnet werden.

## **5.11 Pflanzenanbau**

### **5.11.1 Aufzucht und Pflege der Pflanzen**

Mitte bis Ende März wurden die Samen in eine Saatenschale ausgesät. Die Keimblätter erschienen ca. 10-14 Tage nach der Aussaat. Nachdem am ca. 18. Tag mindestens 4 Blätter an dem ca. 5 cm hohen Trieb zu beobachten waren, wurden die stärksten und kräftigsten Pflänzchen pikiert und in kleine Blumentöpfe (Durchmesser: 7 cm; Höhe: 8 cm) umgepflanzt. Die Pflanzen wuchsen in dem Tempo, dass sie ca. 5 Wochen nach der Aussaat in Blumentöpfe mit einem Durchmesser von 9 cm und einer Höhe von 10 cm und abschließend ca. 8 Wochen nach der Aussaat in Blumentöpfe mit einem Durchmesser von 18 cm und einer Höhe von 14 cm gepflanzt werden mussten.

Parallel hierzu wuchsen ab der 6.-7. Woche die ersten Blütenknospen heran, die sich dann ab der 7.-8. Woche nach der Aussaat zu öffneten. An die Blütenstengel wurden am Tag der Blütenöffnung zweifarbige, kurze Wollfäden geknotet. Die beiden Farben repräsentierten sowohl die Kalenderwoche als auch den Wochentag der Blütenöffnung, so dass deren Datum zurückverfolgt werden konnte.

Die Früchte wurden entsprechend 5.11.1.1 und 5.11.1.2 in den Monaten Juli bis September geerntet.

#### **5.11.1.1 Ernte aller Früchte einer Pflanze an einem Tag**

Alle Früchte einer Pflanze wurden am gleichen Tag geerntet. Fruchtalter, Fruchtposition, Fruchtgewicht und Fruchtfarbe wurden notiert. Die einzelnen Früchte wurden im Anschluss in flüssigen Stickstoff getaucht, in Zentrifugenröhrchen aus Polypropylen verpackt und im Tiefkühlgerät bis zum Tag der Aufarbeitung aufbewahrt.

Diese Vorgehensweise diente später der Untersuchung einzelner Früchte hinsichtlich ihres Schärfegrades in Abhängigkeit von Fruchtalter und -position (siehe 5.7).

#### **5.11.1.2 Gezielte Ernte einzelner Früchte mit definiertem Fruchtalter**

Früchte mit dem gleichen Fruchtalter wurden am gleichen Tag geerntet. Die Früchte durften hierbei auch von unterschiedlichen Pflanzen stammen, sofern diese aus Samen ein und derselben Frucht herangezogen worden waren.

Die in dieser Weise geernteten Früchte wurden sofort verarbeitet, um in Lagerstudien zu überprüfen, ob die Intensität des Schärfegrades vom Fruchtalter abhängig ist (siehe 5.6.7).

#### **5.11.2 Gewächshausparameter**

In Tabelle 16 sind die im Glasgewächshaus herrschenden Bedingungen aufgeführt.

Parameter	Durchschnittswerte
Temperatur:	
Nachts	22-25 °C
Tags	28-32 °C
Luftfeuchtigkeit	50-70 %
Zusatzbeleuchtung (zum natürlichen Licht)	150 µEinstein
Beleuchtungsdauer	16 h (5:30 bis 21:30 Uhr)
Besprengelanlage:	
Intervall	2 h
Dauer	2 min

Tabelle 16: Parameter im Glasgewächshaus

### 5.11.3 Bezug der Samen

#### 1.) Rühlemanns Kräuter- und Duftpflanzen (Rühlemann, Horstedt):

Sibirischer Hauspaprika	<i>Capsicum frutescens</i> L.
Ungarischer Kirschaprika	<i>Capsicum annuum</i> L. var. <i>annuum</i>
Tabasco	<i>Capsicum frutescens</i> L.
Habanero	<i>Capsicum chinense</i> Jacqu.
Jalapeño	<i>Capsicum annuum</i> L. var. <i>annuum</i>
De Arból	<i>Capsicum annuum</i> L. var. <i>annuum</i>
Cayenne	<i>Capsicum annuum</i> L. var. <i>annuum</i>

#### 2.) Frucht aus dem Einzelhandel (akzenta, Wuppertal)

### 5.11.4 Verwendete Erde

#### 1.) Compo SANA® (Compo, Münster)

Qualitätsblumenerde mit Atmungsflocken

Kultursubstrat: Typ II für Pflanzen mit höherem Nährstoffbedarf zum Umtopfen und Pflanzen in Töpfen, Balkonkästen und anderen Pflanzgefäßen

- 2.) Peligran G (Deutsche Perlite GmbH, Dortmund)  
- ein hochwertiger Bodenhilfsstoff aus Perlit, einem rein mineralischen Vulkangestein

Mischungsverhältnis: Compo SANA<sup>®</sup> / Peligran G: 80 + 20 (v + v)

### **5.11.5 Düngung**

- 1.) Compo Gartennahrung (Compo, Münster)  
NPK-Dünger-Lösung (7 + 5 + 6): für die Anwendung im Gartenbau, für alle Gartenpflanzen, Kübel und Aussaaten  
(2-3 Verschlusskappen je 6 Liter Wasser)
  
- 2.) Compo Blaukorn flüssig (Compo, Münster)  
Universaldünger für den Garten  
NPK-Dünger-Lösung (8 + 8 + 6) mit Bor, Kupfer, Mangan, Molybdän und Zink:  
für die Anwendung im Gartenbau

Verwendung: einmal die Woche: freitags

### **5.12 Verwendete Software**

#### Datenaufnahme

Apex<sup>®</sup> Version 3.10a (Apex, Braunschweig)

RsCom Version 2.40 (A&D Company Limited, Tokyo, Japan)

#### Grafik

ISIS Draw<sup>®</sup> Version 2.4 (MDL Information System, San Leandro, USA)

Microsoft Visio<sup>®</sup> Professional Version 2002 (Microsoft, Unterschleissheim)

#### Textverarbeitung und Datenauswertung

Microsoft Word<sup>®</sup> Office Version 2002 (Microsoft, Unterschleissheim)

Microsoft Excel<sup>®</sup> Office Version 2002 (Microsoft, Unterschleissheim)

## 6 LITERATURVERZEICHNIS

- <sup>1</sup> Oberdieck R (1988) *Fleischwirtschaft* 68:1086-1096
- <sup>2</sup> Zoschke H (1997) *Das Chili Pepper Buch*. WDA, Brodersdorf, S 10, 15, 16, 18, 22-24, 82, 86, 92
- <sup>3</sup> Bosland PW (1992) *HortTechnology* 2:6-10
- <sup>4</sup> Gööck R (1965) *Das Buch der Gewürze*. Mosaik Verlag, Hamburg, S 146-153
- <sup>5</sup> Suzuki T, Iwai K (1984) *Constituents of Red Pepper Species: Chemistry, Biochemistry, Pharmacology and Food Science of the Pungent Principle of Capsicum Species*. In: Brossi A (Hrsg) *The Alkaloids*, Akademic Press Inc., New York, 23: 227-299
- <sup>6</sup> Bosland PW (1994) *Chiles: History, Cultivation and Uses*. In: Charalambous G (Hrsg) *The Developments in Food Science: Spices, Herbs and Edible Fungi*. Elsevier Science B.V., S 347-366
- <sup>7</sup> Heiser CB (1969) *Taxon* 18:36-45
- <sup>8</sup> [www.ipni.org/ipni/query\\_author.html](http://www.ipni.org/ipni/query_author.html)
- <sup>9</sup> Brücher H (1977) *Tropische Nutzpflanzen*. Springer, Berlin Heidelberg New York, S 433-444
- <sup>10</sup> Tainter DR, Grenis AT (2001) *Spices and Seasonings*. Wiley-VCH, New York Chichester Weinheim Brisbane Singapore Toronto, S 47-57
- <sup>11</sup> Ebert K (1982) *Arznei- und Gewürzpflanzen*. WVG, Stuttgart, S 160-161
- <sup>12</sup> Forschungsstelle „Gewürze“ im Fachverband der Gewürzindustrie e.V. (Hrsg) (1993) *Kleine Gewürzkunde*. Bonn, S 61-62
- <sup>13</sup> Bosland PW, Votava, EJ (2000) *Peppers: Vegetable and Spice Capsicums*. *CABI Publishing*, Oxon New York, S 3, 15-16, 24, 40-41, 44, 49, 52-53, 91-94, 95, 118, 122, 128-130, 135
- <sup>14</sup> FAO (2002) *2001 Yearbook Production Vol. 55, Statistics Series No. 170*. FAO, Rom, S 152-153
- <sup>15</sup> Maga JA (1975) *Capsicum*. *Crit Rev Food Sci Nutr* 12: 177-199
- <sup>16</sup> Purseglove JW (1981) *Spices*. Longman, New York, S 334-336
- <sup>17</sup> Frohne D, Jensen U (1998) *Systematik des Pflanzenreichs*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, S 236-243
- <sup>18</sup> Siewek F (1990) *Exotische Gewürze*. Birkhäuser Verlag, Basel Boston Berlin, S 32
- <sup>19</sup> Tong N, Bosland PW (2003) *Genet Resour Crop Ev* 50: 193-199
- <sup>20</sup> Erickson AN, Markhart AH (2002) *Plant Cell Environ* 25:123-130
- <sup>21</sup> Usman IS, Mamat AS, Mohammed HSZS, Aishah HS, Anuar AR (1999) *Sci Hort* 79:1-11
- <sup>22</sup> Biles CL, Wall MM, Blackstone K (1993) *J Amer Soc Hort Sci* 118: 476-480
- <sup>23</sup> Jo MH, Yamamoto M, Matsubara S, Murakami K (1997) *J Japan Soc Hort Sci* 65: 713-722
- <sup>24</sup> Tadesse T, Hewett EW, Nichols MA, Fisher KJ (2002) *Sci Hort* 93: 91-103
- <sup>25</sup> Estrada B, Pomar F, Díaz J, Merino F, Bernal A (1997) *Capsicum Eggplant Newsletter* 16: 60-63
- <sup>26</sup> Estrada B, Pomar F, Díaz J, Merino F, Bernal MA (1998) *J Hortic Sci Biotechnol* 73: 493-497
- <sup>27</sup> <http://www.biologie.uni-hamburg.de/b-online/library/koehler/koeh-027.jpg> (© Thomas Schöpke)
- <sup>28</sup> <http://www.chilepepperinstitute.org/anatom.html>
- <sup>29</sup> Dassler E, Heitmann G (1991) *Obst und Gemüse – Eine Warenkunde*. Verlag Paul Parey, Berlin Hamburg, S 231-236
- <sup>30</sup> Wilkins CK (1992) *Lebensm Wiss Technol* 25: 219-223

- <sup>31</sup> aid Presseinfo (2003) aid infodienst 26: 8
- <sup>32</sup> Mercado JA, Reid MS, Valpuesta V, Quesada MA (1997) Aust J Plant Physiol 24: 759-767
- <sup>33</sup> Carter AK, Vavrina CS (2001) Hortscience 36: 724-725
- <sup>34</sup> Belakbir A, Ruiz JM, Romero L (1998) Hortscience 33: 85-87
- <sup>35</sup> Anchondro JA, Wall MM, Gutschick VP, Smith DW (2001) Hortscience 36: 1206-1210
- <sup>36</sup> Johnson CD, Decoteau DR (1996) Hortscience 31: 1119-1123
- <sup>37</sup> Salunkhe DK, Desai, BB (1984) Postharvest Biotechnology of Vegetables, CRC Press Inc., Boca Raton, 2: 49-58
- <sup>38</sup> Tevini M (1997) Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V., 55. Diskussionstagung, S 74-99
- <sup>39</sup> Prabha TN, Neelwarne B, Tharanathan RN (1998) Z Lebensm Unters Forsch A 206: 121-125
- <sup>40</sup> Berke TG, Shieh SC (2001) Capsicum, chillies, paprika, bird's eye chilli. In: Peter KV (Hrsg) Handbook of herbs and spices. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, S 111-122
- <sup>41</sup> Estrada B, Bernal MA, Pomar F, Merino F (2001) Acta Aliment 30: 373-380
- <sup>42</sup> Bosland PW (1993) Capsicum Eggplant Newsletter 12: 25-31
- <sup>43</sup> Lindsey K, Bosland PW (1995) Capsicum Eggplant Newsletter 14: 36-38
- <sup>44</sup> Estrada B, Pomar F, Díaz J, Merino F, Bernal MA (1999) Sci Hort 81: 385-396
- <sup>45</sup> Collins MD, Mayer Wasmund L, Bosland PW (1995) Hortscience 30: 137-139
- <sup>46</sup> Contreras-Padilla M, Yahia EM (1998) J Agric Food Chem 46: 2075-2079
- <sup>47</sup> Govindarajan VS (1986) CRC Crit Rev Food Sci Nutr 24: 245-353
- <sup>48</sup> Bennet DJ, Kirby GW (1968) J Chem Soc, C, 442-446
- <sup>49</sup> Jurenitsch J, Leinmüller R (1980) J Chromatogr 189: 389-397
- <sup>50</sup> Jurenitsch J, David M, Heresch F, Kubelka W (1979) Planta Med 36: 61-67
- <sup>51</sup> Suzuki T, Kawada T, Iwai K (1980) J Chromatogr 198: 217-223
- <sup>52</sup> Rangoonwala R, Seitz G (1970) Deutsche Apotheker-Zeitung 110: 1946-1949
- <sup>53</sup> Kosuge S, Furuta M (1970) Agric Biol Chem 34: 248-256
- <sup>54</sup> Heresch F, Jurenitsch J (1979) Chromatographia 12: 647-650
- <sup>55</sup> Jurenitsch J, Bingler E, Becker H, Kubelka W (1979) Planta Med 36: 54-60
- <sup>56</sup> Maillard M-N, Giampaoli P, Richard HMJ (1997) Flavour Fragrance J 12: 409-413
- <sup>57</sup> Collins M, Bosland P (1994) Capsicum Eggplant Newsletter 13: 48-51
- <sup>58</sup> Jurenitsch J, Kubelka W, Jentzsch K (1979) Planta Med 35: 174-183
- <sup>59</sup> Jurenitsch J (1981) Sci Pharm 49: 321-328
- <sup>60</sup> Kirschbaum P (2002) Dissertation Bergische Universität GH Wuppertal
- <sup>61</sup> Zewdie Y, Bosland PW (2001) Biochem Syst Ecol 29: 161-169
- <sup>62</sup> Ishikawa K, Janos T, Sakamoto S, Nunomura O (1998) Capsicum Eggplant Newsletter 17: 22-25
- <sup>63</sup> Iwai K, Lee K-R, Kobashi M, Suzuki T, Oka S (1978) Agric Biol Chem 42: 201-202
- <sup>64</sup> Iwai K, Suzuki T, Fujiwake H (1979) Agric Biol Chem 43: 2493-2498
- <sup>65</sup> Suzuki T, Fujiwake H, Iwai K (1980) Plant Cell Physiol 21: 839-853
- <sup>66</sup> Gassner G, Bothe F, Hohmann B, Deutschmann F (1989) Mikroskopische Untersuchung pflanzlicher Lebensmittel. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, S 262-268
- <sup>67</sup> Sukrasno N, Yeoman MM (1993) Phytochem 32: 839-844

- <sup>68</sup> Leete E, Loudon MCL (1968) *J Am Chem Soc* 90: 6837-6841
- <sup>69</sup> Kopp B, Jurenitsch J (1981) *Planta Med* 43: 272-279
- <sup>70</sup> Suzuki T, Kawada T, Iwai K (1981) *Plant Cell Physiol* 22: 23-32
- <sup>71</sup> Kopp B, Jurenitsch J, Kubelka W (1980) *Planta Med* 39: 289
- <sup>72</sup> Ragoonwala R (1969) *Pharmazie* 24: 177
- <sup>73</sup> Ochoa-Alejo N, Gómez-Peralta JE (1993) *J Plant Physiol* 141: 147-152
- <sup>74</sup> Holden MA, Hall RD, Lindsey K, Yeoman MM (1987) Capsaicin biosynthesis in cell cultures of *Capsicum frutescens*. In: Webb C, Mavituna F (Hrsg) *Plant and Animal Cells Process Possibilities*. Ellis Horwood, Chichester, S 45-63
- <sup>75</sup> Hall RD, Yeoman MM (1991) *Planta* 185: 72-80
- <sup>76</sup> Fujiwake H, Suzuki T, Iwai K (1982) *Agric Biol Chem* 46: 2591-2592
- <sup>77</sup> Dixon RA, Paiva NL (1995) *Plant Cell* 7: 1085-1097
- <sup>78</sup> Fujiwake H, Suzuki T, Iwai K (1982) *Agric Biol Chem* 46: 2685-2689
- <sup>79</sup> Fujiwake H, Suzuki T, Oka S, Iwai K (1980) *Agric Biol Chem* 44: 2907-2912
- <sup>80</sup> Kim K-W, Varindra R, Cho K-J, Kim J-G, Lee S-W (2000) *Agric Chem Biotechnol* 43: 152-155
- <sup>81</sup> Suzuki T, Kawada T, Iwai K (1981) *Agric Biol Chem* 45: 535-537
- <sup>82</sup> Kehayoglou AH, Manoussopoulos CI (1977) *J Agric Food Chem* 25: 1260-1262
- <sup>83</sup> Kopp B, Jurenitsch J (1982) *Sci Pharm* 50: 150-157
- <sup>84</sup> Schratz E, Ragoonwala R (1966) *Sci Pharm Proc Congr 25<sup>th</sup> Meeting Date 1965* 1: 365-374
- <sup>85</sup> Hall RD, Holden MA, Yeoman MM (1987) *Plant Cell Tissue Organ Cult* 8: 163-176
- <sup>86</sup> Salgado-Garciglia R, Ochoa-Alejo N (1990) *Plant Cell Rep* 8: 617-620
- <sup>87</sup> Sakamoto S, Goda Y, Maitani T, Yamada T, Nunomura O, Ishikawa K (1994) *Biosci Biotech Biochem* 58: 1141-1142
- <sup>88</sup> Estrada B, Bernal MA, Díaz J, Pomar F, Merino F (2000) *J Agric Food Chem* 48: 6234-6239
- <sup>89</sup> Park JC, Park SM, Yoo KC, Jeong CS (2001) *J Kor Soc Hort Sci* 42: 289-294
- <sup>90</sup> Govindarajan VS, Rajalakshmi D, Chand N (1987) *CRC Crit Rev Food Sci Nutr* 25: 185-283
- <sup>91</sup> Lorio PL (1986) *Forest Ecol Manag* 14: 259-273
- <sup>92</sup> Quagliotti L (1969) *Riv Agronom* 3: 202-204
- <sup>93</sup> Quagliotti L (1971) *Hort Res* 11: 93-97
- <sup>94</sup> Balbaa SI, Karawya MS, Girgis AN (1968) *Lloydia* 31: 272-274
- <sup>95</sup> Estrada B, Díaz J, Merino F, Bernal MA (1999) *Capsicum Eggplant Newsletter* 18: 28-31
- <sup>96</sup> Harvell KP, Bosland PW (1997) *Hortscience* 32: 1292
- <sup>97</sup> Zewdie Y, Bosland PW (2000) *Euphyt* 111: 185-190
- <sup>98</sup> Bernal MA, Calderón AA, Pedreño MA, Muñoz R, Barceló AR, Merino de Cáceres F (1993) *J Food Sci* 58: 611-613 und 679
- <sup>99</sup> Bernal MA, Calderón AA, Pedreño MA, Muñoz R, Barceló AR, Merino de Cáceres F (1993) *J Agric Food Chem* 41: 1041-1044
- <sup>100</sup> Bernal MA, Calderón AA, Pedreño MA, Ferrer MA, Merino de Cáceres F, Barceló AR (1994) *Z Lebensm Unters Forsch* 199: 240-242

- <sup>101</sup> Bernal MA, Calderón AA, Ferrer MA, Merino de Cáceres F, Barceló AR (1995) *J Agric Food Chem* 43: 352-355
- <sup>102</sup> Bernal MA, Merino de Cáceres F, Barceló AR (1994) *Lebensm Wiss Technol* 27: 197-198
- <sup>103</sup> Bernal MA, Barceló AR (1996) *J Agric Food Chem* 44: 3085-3089
- <sup>104</sup> Pomar F, Bernal MA, Díaz J, Merino F (1997) *Phytochem* 46: 1313-1317
- <sup>105</sup> Biles CL, Kuehn GD, Wall MM, Bruton BD, Vann Wann E (1997) *Plant Physiol & Biochem* 35: 273-280
- <sup>106</sup> Biles CL, Wall MM, Waugh M, Palmer H (1993) *Physiol Biochem* 83: 607-611
- <sup>107</sup> Krajayklang M, Klieber A, Dry PR (2000) *Postharvest Biology and Technology* 20: 269-278
- <sup>108</sup> Kirschbaum-Titze P, Hiepler C, Mueller-Seitz E, Petz M (2002) *J Agric Food Chem* 50: 1260-1263
- <sup>109</sup> Henderson DE, Henderson SK (1992) *J Agric Food Chem* 40: 2263-2268
- <sup>110</sup> Lease JG, Lease EJ (1962) *Food Technol* 11: 104-106
- <sup>111</sup> Mangaraj S, Singh A, Samuel DVK, Singhal OP (2001) *J Food Sci Technol* 38: 296-299
- <sup>112</sup> Ahmed J, Shivhare US, Debnath S (2002) *Int J Food Sci Technol* 37: 57-63
- <sup>113</sup> Harrison MK, Harris ND (1985) *J Food Sci* 50: 1764-1765
- <sup>114</sup> Lee Y, Howard L (1999) *J Agric Food Chem* 47: 700-703
- <sup>115</sup> Jones ECS, Pyman FL (1925) *J Chem Soc* 127: 2588-2598
- <sup>116</sup> Nelson EK (1919) *J Am Chem Soc* 41: 2121-2123
- <sup>117</sup> Govindarajan VS, Sathyanarayana MN (1991) *Crit Rev Food Sci Nutr* 29: 435-474
- <sup>118</sup> Krajewska AM, Powers JJ (1988) *J Food Sci* 53: 902-905
- <sup>119</sup> Carden LA, Penfield MP, Saxton AM (1999) *J Food Sci* 64: 175-179
- <sup>120</sup> Prescott J, Stevenson RJ (1995) *Food Rev Int* 11: 665-698
- <sup>121</sup> Buck SH, Burks TF (1986) *Pharmacol Rev* 38: 179-226
- <sup>122</sup> Lieb K, Herpfer I, Fiebich BL, Berger M (2002) *Nervenheilkunde* 21: 493-496
- <sup>123</sup> [www.medizininfo.de/schmerz/rezeptor.htm](http://www.medizininfo.de/schmerz/rezeptor.htm)
- <sup>124</sup> Jancso N, Jancso-Gabor A (1959) *Arch Exp Pathol Pharmacol* 236:142-145
- <sup>125</sup> Hermes P (1995) *Ökotest* 11: 37-49
- <sup>126</sup> Campbell RK, Baker DE (1990) *Diabetes Educ* 16: 313-316
- <sup>127</sup> Prescott ED, Julius D (2003) *Science* 300: 1284-1288
- <sup>128</sup> Sancho R, Lucena C, Macho A, Calzado MA, Blanco-Molina M, Minassi A, Appendino G, Muñoz E (2002) *Eur J Immunol* 32: 1753-1763
- <sup>129</sup> Kobata K, Todo T, Yazawa S, Iwai K, Watanabe T (1998) *J Agric Food Chem* 46: 1695-1697
- <sup>130</sup> Yazawa S, Niwa S, Watanabe T, Fushiki T (1998) *Suppl J Japan Soc Hort Sci* 67: 296
- <sup>131</sup> Ohnuki K, Haramizu S, Watanabe T, Yazawa S, Fushiki T (2001) *J Nutr Sci Vitaminol* 47: 295-298
- <sup>132</sup> Ohnuki K, Haramizu S, Oki K, Watanabe T, Yazawa S, Fushiki T (2001) *Biosci Biotechnol Biochem* 65: 2735-2740
- <sup>133</sup> Iida T, Moriyama T, Kobata K, Morita A, Murayama N, Hashizume S, Fushiki T, Yazawa S, Watanabe T, Tominaga M (2003) *Neuropharm* 44: 958-967
- <sup>134</sup> Peusch M (1997) Dissertation Bergische Universität GH Wuppertal
- <sup>135</sup> Peusch M, Mueller-Seitz E, Petz M (1996) *Lebensmittelchemie* 50: 112-115

- <sup>136</sup> Peusch M, Mueller-Seitz E, Petz M, Mueller A, Anklam E (1997) *Z Lebensm Unters Forsch A* 204: 351-355
- <sup>137</sup> Zewdie Y, Bosland PW (2000) *J Amer Soc Hort Sci* 125: 448-453
- <sup>138</sup> Zewdie Y, Bosland PW (2001) *Hortscience* 36: 1315-1317
- <sup>139</sup> Titze P, Petz M (1999) *Lebensmittelchemie* 53: 78
- <sup>140</sup> Kirschbaum-Titze P, Mueller-Seitz E, Petz M (2002) *J Agric Food Chem* 50: 1264-1266
- <sup>141</sup> Zewdie Y, Bosland PW (2000) *Hortscience* 35: 1174
- <sup>142</sup> [http://www.plantacultura.org/de/capsicum/sorten\\_c.html](http://www.plantacultura.org/de/capsicum/sorten_c.html)
- <sup>143</sup> <http://www.ijon.de/chili/var-d.html>
- <sup>144</sup> Belitz HD, Grosch W, Schieberle P (2001) *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, S 4, 93, 968
- <sup>145</sup> Govindarajan VS (1985) *CRC Crit Rev Food Sci Nutr* 22: 109-176
- <sup>146</sup> Kim HK, Song Y, Yam KL (1991) *Int J Food Sci Technol* 29: 339-345
- <sup>147</sup> Scharf K-H, Sebald F (1999) *Stoffwechselfysiologie*. Schroedel Verlag, Hannover, S 23
- <sup>148</sup> Martin Christ GmbH & Co. KG (1982) *Bedienungsanleitung für die Gefriertrocknungsanlage, Osterode*, S 3
- <sup>149</sup> Bibliographisches Institut (1976) *Die Biologie*. Dudenverlag, Mannheim Wien Zürich, S 166
- <sup>150</sup> Rymal KS, Cospers RD, Smith DA (1984) *J Assoc Off Anal Chem* 67: 658-659
- <sup>151</sup> Kurian AL, Starks AN (2002) *J Food Sci* 67: 956-962
- <sup>152</sup> Curry J, Aluru M, Mendoza M, Nevarez J, Melendrez M, O'Connell MA (1999) *Plant Sci* 148: 47-57
- <sup>153</sup> Estrada B, Bernal MA, Díaz J, Pomar F, Merino F (2002) *J Agric Food Chem* 50: 1188-1191
- <sup>154</sup> Deutsches Institut für Normung e.V. (1981) *DIN 50008 Teil 1*

## **7 ABBILDUNGSVERZEICHNIS**

Abbildung 1: Zeichnung einer blühenden Chilipflanze .....	8
Abbildung 2: Längsschnitt einer Chilifrucht .....	9
Abbildung 3: Die Strukturformeln der bisher bekannten Capsaicinoide .....	15
Abbildung 4: Längsschnitt durch den Randteil der Paprika-Fruchtscheidewand mit epidermalen Capsaicinoid-Drüsen <sup>65</sup> .....	17
Abbildung 5: Biosyntheseweg von Capsaicin <sup>5</sup> .....	18
Abbildung 6: Biosynthetische Zusammenhänge zwischen den Phenylpropanoiden <sup>66</sup> .....	22
Abbildung 7: Aufarbeitungsschema für Einzelfrüchte .....	37
Abbildung 8: Sibirische Hauspaprika, Alter [d] der Früchte von Pflanze b (Anbaujahr 2001) .....	38
Abbildung 9: Sibirische Hauspaprika, Capsaicinoidgehalt [mg/Frucht] der Früchte von Pflanze b (Anbaujahr 2001) .....	39
Abbildung 10: Cayenne, Alter [d] der Früchte von Pflanze a (Anbaujahr 2001) .....	40
Abbildung 11: Cayenne, Capsaicinoidgehalt [mg/Frucht] der Früchte von Pflanze a (Anbaujahr 2001) .....	41
Abbildung 12: Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Alter (Sibirische Hauspaprika, 2 Pflanzen, Anbaujahr 2001) .....	42
Abbildung 13: Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Nodium für das Fruchtalter 35-38 d (Sibirische Hauspaprika, 2 Pflanzen, Anbaujahr 2001) .....	43
Abbildung 14: Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Nodium mit 90 %-Vertrauensbereich (Cayenne, 2 Pflanzen a und b, 56 Einzelfrüchte, Anbaujahr 2001) .....	44
Abbildung 15: Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Fruchtalter mit 90 %-Vertrauensbereich und 2 Ausreißer (Cayenne, 2 Pflanzen a und b, 56 Einzelfrüchte, Anbaujahr 2001) .....	44
Abbildung 16: Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Nodium mit 90 %-Vertrauensbereich (Sibirische Hauspaprika, 2 Pflanzen a und b, 80 Einzelfrüchte, Anbaujahr 2001) .....	45
Abbildung 17: Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Fruchtalter mit 90 %-Vertrauensbereich und 3 Ausreißer (Sibirische Hauspaprika, 2 Pflanzen a und b, 80 Einzelfrüchte, Anbaujahr 2001) .....	46
Abbildung 18: Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Nodium mit 90 %-Vertrauensbereich (Sibirische Hauspaprika, 1 Pflanze, 105 Einzelfrüchte, Anbaujahr 2002) .....	47
Abbildung 19: Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Fruchtalter mit 90 %-Vertrauensbereich und 1 Ausreißer (Sibirische Hauspaprika, 1 Pflanze, 105 Einzelfrüchte, Anbaujahr 2002) .....	47
Abbildung 20: Abhängigkeit des Capsaicinoidgehaltes vom Fruchtalter mit 90 %-Vertrauensbereich (Sibirische Hauspaprika, 3 Pflanzen, 185 Einzelfrüchte, Anbaujahre 2001 und 2002) .....	48
Abbildung 21: Aufarbeitungsschema zur Lagerung von zerkleinertem Fruchtmaterial .....	51
Abbildung 22: Aufarbeitungsschema für die Lagerung von 2 cm-Stücken .....	54
Abbildung 23: Lagerung von 2 cm großen Fruchtstücken (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3) .....	55

Abbildung 24: Abnahme des Capsaicinoidgehaltes in zerkleinertem Fruchtmaterial unter Beibehaltung des Capsaicinoidmusters (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3) ..... 56

Abbildung 25: Beispielchromatogramm: NDC-Konzentration unterhalb des Kalibrierbereiches ..... 57

Abbildung 26: Beispielchromatogramm: Interferenzen zwischen NDC und Abbauprodukt(en) ..... 57

Abbildung 27: Beispielchromatogramm der Hauptcapsaicinoide mit Konzentrationen innerhalb des Kalibrierbereiches und ohne Interferenzen ..... 58

Abbildung 28: Lagerung mit 0,3 mmolarer Wasserstoffperoxidlösung (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3) ..... 59

Abbildung 29: Lagerung von zerkleinertem Fruchtmaterial unter Sauerstoff und Stickstoff bei Kühlschranks- und Raumtemperatur (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3) ..... 60

Abbildung 30: Wasserverluste während der Lagerung bei Raumtemperatur ..... 62

Abbildung 31: Lagerung von zerkleinertem Fruchtmaterial unter Sauerstoff und Stickstoff bei Kühlschranks- und Raumtemperatur, jeweils bei 98 % Luftfeuchte (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3) ..... 63

Abbildung 32: Lagerung von zerkleinertem Fruchtmaterial unter Sauerstoff und Stickstoff bei Kühlschranks- und Raumtemperatur, bei 52 bzw. 54 % Luftfeuchte (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3) ..... 64

Abbildung 33: Lagerung von zerkleinertem Fruchtmaterial unter Sauerstoff und Stickstoff bei Kühlschranks- und Raumtemperatur, jeweils bei 12 % Luftfeuchte (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3) ..... 65

Abbildung 34: Aufarbeitungsschema für die Lagerung von zerkleinertem Fruchtmaterial nach Gefriertrocknung ..... 68

Abbildung 35: Lagerung von gefriergetrocknetem, zerkleinertem Fruchtmaterial unter verschiedenen Lagerungsbedingungen (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3) ..... 70

Abbildung 36: 1. Lagerung zerkleinerten Fruchtmaterials nach Entfernung der Schale (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3) ..... 72

Abbildung 37: 2. Lagerung zerkleinerten Fruchtmaterials nach Entfernung der Schale (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3) ..... 73

Abbildung 38: Lagerung von zerkleinertem Fruchtmaterial bei 17 °C, 22 °C und 27 °C (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3) ..... 75

Abbildung 39: Lagerung von zerkleinertem Fruchtmaterial bei Raumtemperatur nach dem vorherigen Einfrieren (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3) ..... 77

Abbildung 40: Aufarbeitungsschema für den Peroxidasefarbtest ..... 79

Abbildung 41: Kalibriergerade mit Meerrettichperoxidase ..... 80

Abbildung 42: Peroxidasebestimmung in *Capsicum*-Fruchtmaterial nach unterschiedlicher Vorbehandlung (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 2) ..... 81

Abbildung 43: Peroxidasetest – Kontrolllagerung von zerkleinertem Fruchtmaterial (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3) ..... 82

Abbildung 44: Lagerung zerkleinerten Fruchtmaterials mit einem Alter von 18, 24, 34, 41 und 50 Tagen (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 2) ..... 84

Abbildung 45: Lagerung zerkleinerten Fruchtmaterials mit einem Alter von 60, 71 und 81 Tagen  
(Mittelwert mit Standardabweichung, n = 2) ..... 84

Abbildung 46: Mittelwerte aus den Capsaicinoidgehalten [mg/kg] der über 25 Tage alten Einzelfrüchte  
mit 90 % - Konfidenzintervallen pro Nodium (Sibirische Hauspaprika, 1 Pflanze, Anbaujahr 2002)  
..... 92

Abbildung 47: Die 5 niedrigsten und 5 höchsten Mittelwerte, berechnet aus den Capsaicinoidgehalten  
von Einzelfrüchten des 4. und 5. Nodiums (Sibirische Hauspaprika, 1 Pflanze, Anbaujahr 2002)  
..... 93

Abbildung 48: Lagerung von zerkleinertem Fruchtmaterial unter Sauerstoff bei Raumtemperatur und  
bei drei verschiedenen Luftfeuchten (Mittelwert mit Standardabweichung, n = 3) ..... 98

Abbildung 50: Alter der Einzelfrüchte [d] (Sibirische Hauspaprika, Pflanze a, Anbaujahr 2001) ..... 140

Abbildung 51: Gewichte der Einzelfrüchte [g] (Sibirische Hauspaprika, Pflanze a, Anbaujahr 2001). 140

Abbildung 52: Capsaicinoidgehalte der Einzelfrüchte [mg/Frucht] (Sibirische Hauspaprika, Pflanze a,  
Anbaujahr 2001)..... 141

Abbildung 53: Gewichte der Einzelfrüchte [g] (Sibirische Hauspaprika, Pflanze b, Anbaujahr 2001). 141

Abbildung 54: Alter der Einzelfrüchte [d] (Sibirische Hauspaprika, Anbaujahr 2002) ..... 142

Abbildung 55: Gewichte der Einzelfrüchte [g] (Sibirische Hauspaprika, Anbaujahr 2002)..... 142

Abbildung 56: Capsaicinoidgehalte der Einzelfrüchte [mg/Frucht] (Sibirische Hauspaprika, Anbaujahr  
2002) ..... 143

Abbildung 57: Gewichte der Einzelfrüchte [g] (Cayenne, Pflanze a, Anbaujahr 2001) ..... 143

Abbildung 58: Alter der Einzelfrüchte [d] (Cayenne, Pflanze b, Anbaujahr 2001)..... 144

Abbildung 59: Gewichte der Einzelfrüchte [g] (Cayenne, Pflanze b, Anbaujahr 2001) ..... 144

Abbildung 60: Capsaicinoidgehalte der Einzelfrüchte [mg/Frucht] (Cayenne, Pflanze b, Anbaujahr  
2001) ..... 145

Abbildung 61: Alter der Einzelfrüchte [d] (De Arból, Pflanze a, Anbaujahr 2001) ..... 145

Abbildung 62: Gewichte der Einzelfrüchte [g] (De Arból, Pflanze a, Anbaujahr 2001) ..... 146

Abbildung 63: Capsaicinoidgehalte der Einzelfrüchte [mg/Frucht] (De Arból, Pflanze a, Anbaujahr  
2001) ..... 146

Abbildung 64: Alter der Einzelfrüchte [d] (De Arból, Pflanze b, Anbaujahr 2001) ..... 147

Abbildung 65: Gewichte der Einzelfrüchte [g] (De Arból, Pflanze b, Anbaujahr 2001) ..... 147

Abbildung 66: Capsaicinoidgehalte der Einzelfrüchte [mg/Frucht] (De Arból, Pflanze b, Anbaujahr  
2001) ..... 148

## 8 TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Maximale Capsaicinoidkonzentrationen in verschiedenen <i>Capsicum</i> -Sorten.....	14
Tabelle 2: Anreicherung von Capsaicinoiden in <i>Capsicum</i> -Früchten.....	21
Tabelle 3: Capsaicinoidgehalte vor und nach der Gefrieretrocknung (Dreifachbestimmung).....	69
Tabelle 4: Relative Capsaicinoidgehalte der nicht gefriergetrockneten Kontrollproben.....	70
Tabelle 5: Schwankungsbreiten der über 25 Tage alten Einzelfrüchte von sieben Pflanzen (Anbaujahre 2001 und 2002) .....	86
Tabelle 6: Mittelwerte der Capsaicinoidgehalte und Variationskoeffizienten berechnet aus den Tabellen 2 und 4 von <i>Kurian und Starks</i> <sup>150</sup> .....	87
Tabelle 7: Mittelwerte der Capsaicinoidgehalte und Variationskoeffizienten der untersuchten, über 25 Tage alten Früchte .....	88
Tabelle 8: Anfangsschärfegehalte und Abbauintensitäten nach 3 oder 4 Tagen (unter Positivbedingungen) in allen durchgeführten Analysen .....	95
Tabelle 9: PSVA-Standardlösungen für die Kalibrierreihe.....	110
Tabelle 10: Gesättigte Salzlösungen zur Einstellung einer definierten Luftfeuchte .....	115
Tabelle 11: Wasser-Methanol-Gemische für die Extraktion von Einzelfrüchten .....	120
Tabelle 12: Weitere Aufarbeitung: Größen, Volumina, Verdünnungen .....	121
Tabelle 13: Korrekturfaktoren für $a_w$ -Wert-Messungen .....	122
Tabelle 14: Meerrettichperoxidase: Standardlösungen für die Kalibrierreihe.....	124
Tabelle 15: Peroxidasetest: Probeneinwaage .....	125
Tabelle 16: Parameter im Glasgewächshaus .....	128

## 9 ANHANG

### 9.1 Botanisch-taxonomische Merkmale

Um eine Chilisorte einer Art zuzuordnen zu können, werden Pflanzenwuchs, Blüten und Früchte betrachtet.

Die Pflanzen der Art *C. annuum* werden bis zu 150 cm hoch, die weißen Blüten wachsen einzeln nach unten hängend. Aus jedem Verzweigungspunkt („Stengelknoten“, „Nodium“) wächst i. Allg. nur eine Blüte, selten zwei oder drei.<sup>2</sup> Die Blüten sind mit Ausnahme einer kleinen Sortenanzahl mit purpurner Krone (Corolla) meistens weiß.<sup>13</sup> Die Länge der Früchte variiert stark und kann bis zu 28 cm (!) betragen. Ebenfalls können sich die reifen Früchte farblich unterscheiden.

*C. frutescens* hat grünliche Blüten<sup>13</sup>, von denen ein bis vier Blüten aus jedem Knoten wachsen<sup>2</sup>, und üblicherweise kleinere Früchte, die schärfer als die Früchte von *C. annuum* sind. Ein Mitglied dieser Art ist die Sorte *Tabasco*. Pflanzen von *Capsicum frutescens* sind in der Natur mehrjährig und können bis zu 2 m hoch wachsen. Sie werden hauptsächlich in wärmeren Regionen angebaut. Ihre lang gezogenen Früchte werden selten bis zu 10 cm lang.<sup>15</sup>

*C. baccatum*: Die Pflanzen haben große Blätter und Blüten und bekommen zum Teil sehr scharfe Früchte. Die Blüten sind weiß-grünlich mit leichten gelben Flecken; die Staubbeutel sind gelb. Wie bei *Capsicum annuum* gibt es pro Stengelknoten nur eine Frucht, die nach unten hängend wächst.<sup>2</sup> Aus den Blüten entstehen konisch gebaute, sehr scharfe Früchte.<sup>15</sup>

*C. chinense*: Pro Stengelknoten bilden sich zwei oder bis zu fünf Blüten, die entweder hängen oder aufrecht stehen und deren Blütenblätter weiß bis grünlich-weiß sind.<sup>2</sup> Die Pflanzen charakterisieren sich durch ihre großen Blätter und die im Allgemeinen runden, sehr scharfen Früchte.<sup>15</sup>

*C. pubescens*: Neben den charakteristisch blau-violetten, purpurnen Blüten fallen Chilis dieser Gruppe durch ihre schwarzen Samen auf. Die dickfleischigen Früchte sind klein, länglich und scharf. Pro Stengelknoten wächst nur eine Blüte. Dank ihrer Frostbeständigkeit wachsen diese Pflanzen in den Bergen Südamerikas in bis zu 3000 m Höhe. Sie werden bis zu 10 Jahre alt und kreuzen sich nur schwer mit anderen Arten.

9.2 Fließdiagramme

9.2.1 Sibirische Hauspaprika, Pflanze a (Anbaujahr 2001)

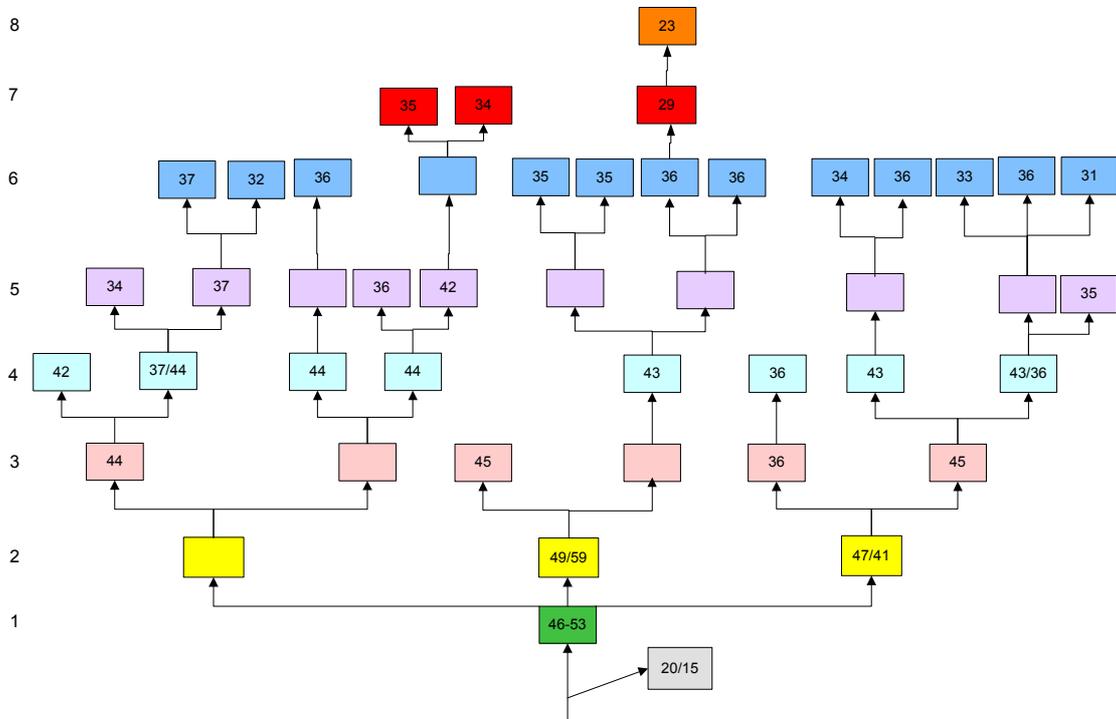


Abbildung 49: Alter der Einzelfrüchte [d] (Sibirische Hauspaprika, Pflanze a, Anbaujahr 2001)

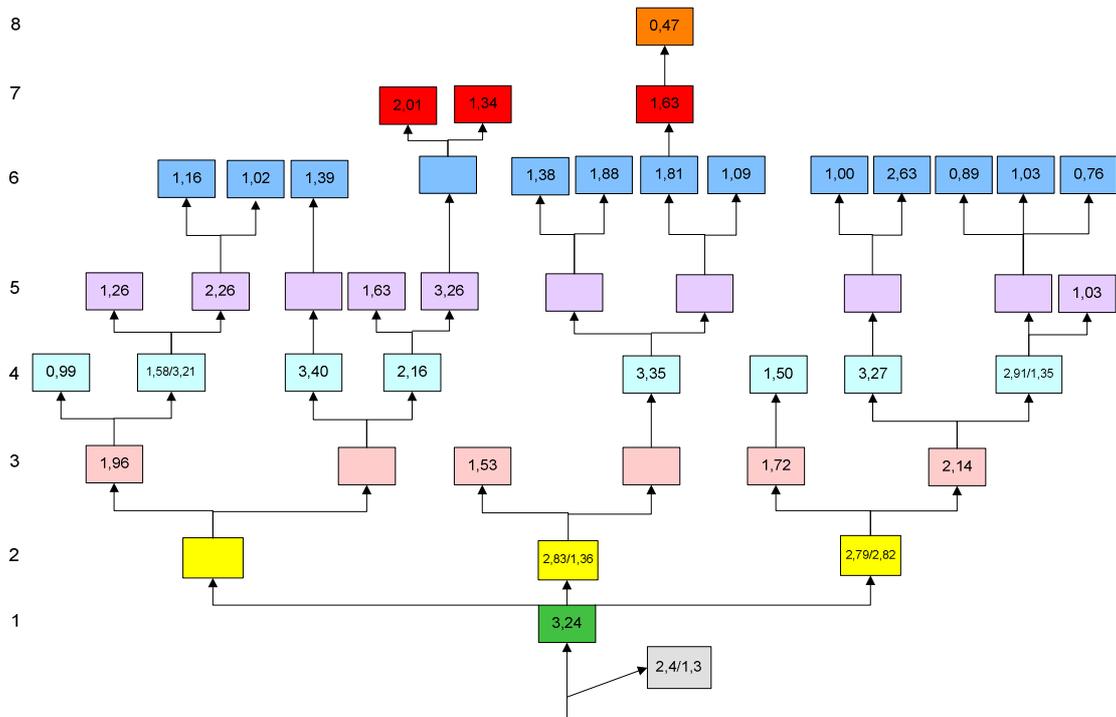


Abbildung 50: Gewichte der Einzelfrüchte [g] (Sibirische Hauspaprika, Pflanze a, Anbaujahr 2001)

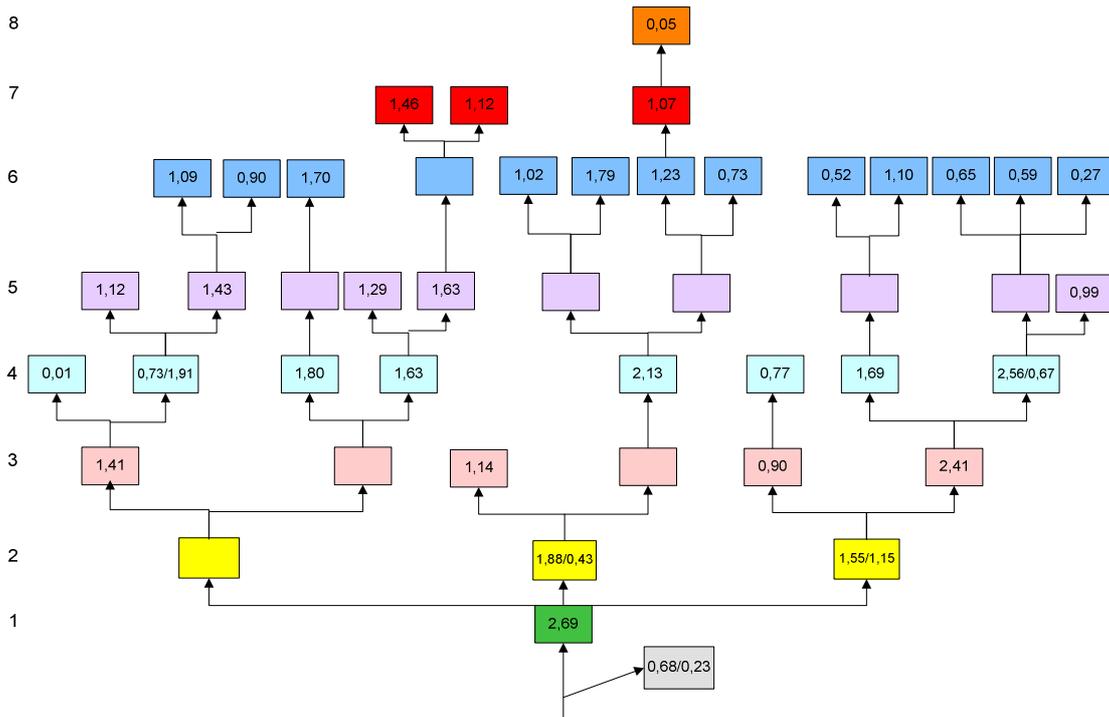


Abbildung 51: Capsaicinoidgehalte der Einzelfrüchte [mg/Frucht] (Sibirische Hauspaprika, Pflanze a, Anbaujahr 2001)

9.2.2 Sibirische Hauspaprika, Pflanze b (Anbaujahr 2001)

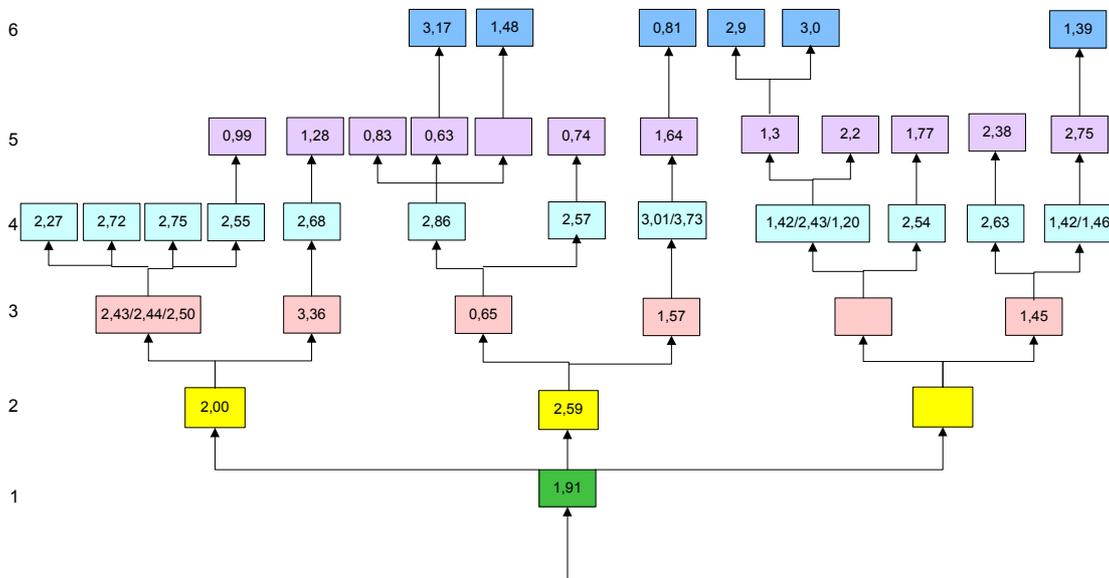


Abbildung 52: Gewichte der Einzelfrüchte [g] (Sibirische Hauspaprika, Pflanze b, Anbaujahr 2001)

Die Fließdiagramm mit dem Alter und den Capsaicinoidgehalten der Einzelfrüchte wurden in Kapitel 2.1.2 genannt.

9.2.3 Sibirische Hauspaprika (Anbaujahr 2002)

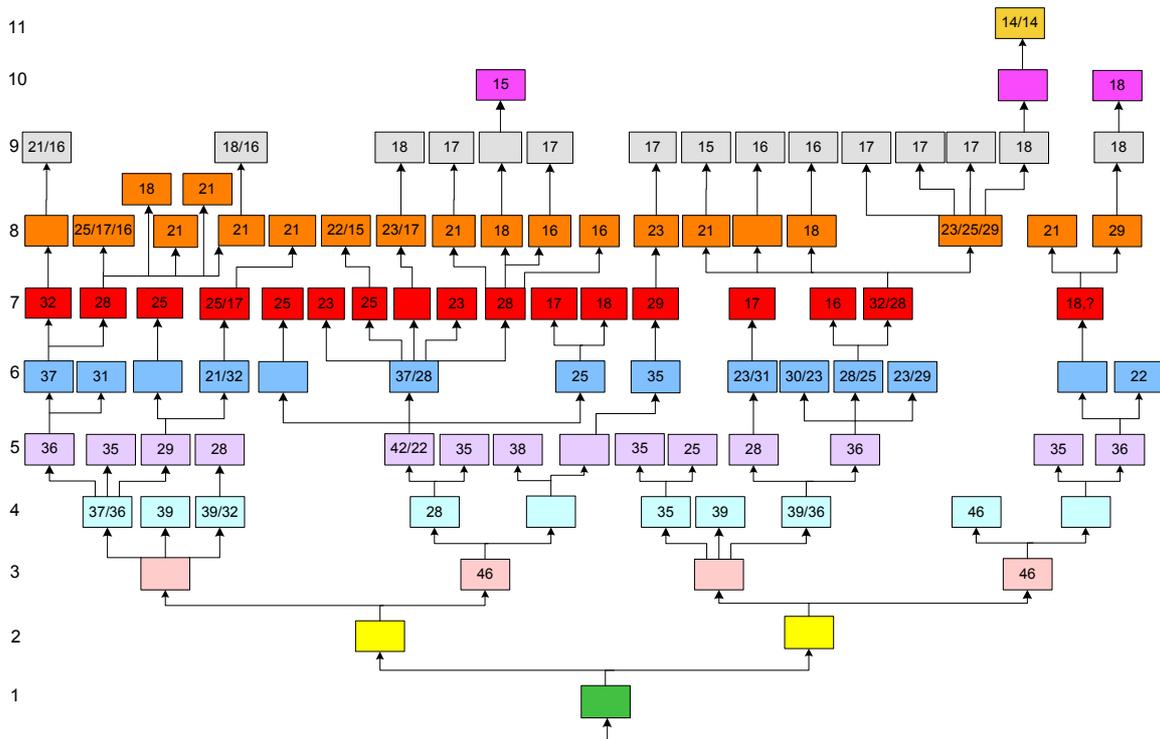


Abbildung 53: Alter der Einzelfrüchte [d] (Sibirische Hauspaprika, Anbaujahr 2002)

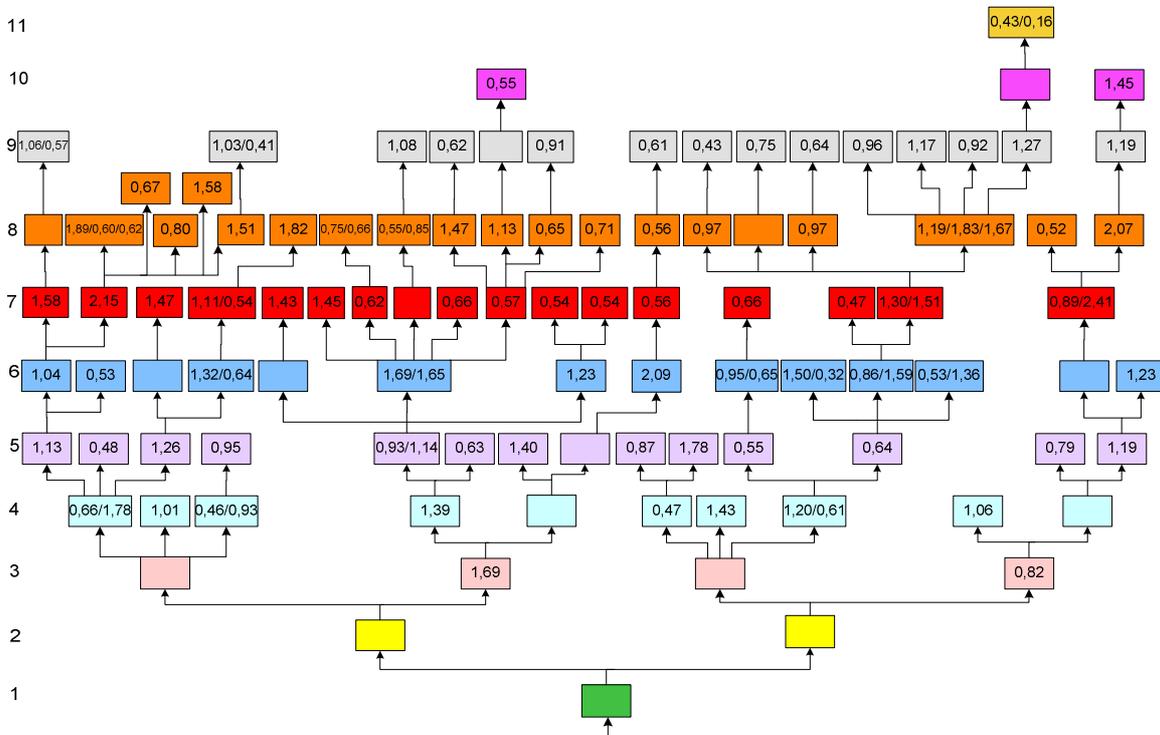


Abbildung 54: Gewichte der Einzelfrüchte [g] (Sibirische Hauspaprika, Anbaujahr 2002)

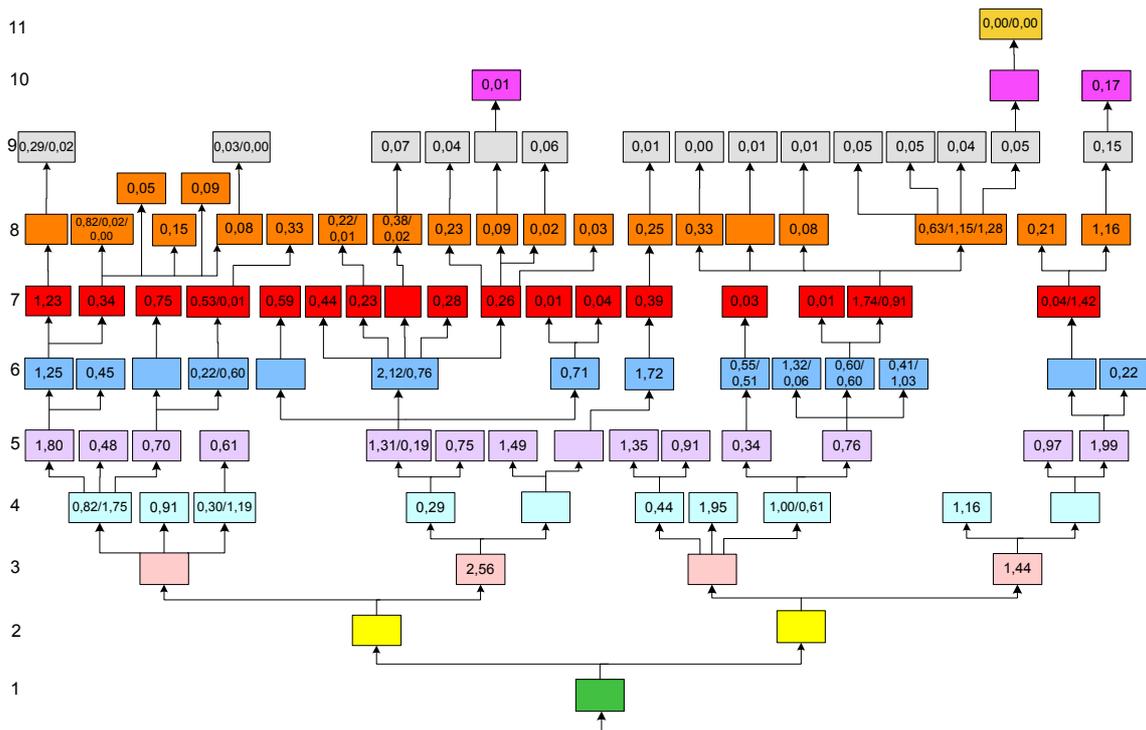


Abbildung 55: Capsaicinoidgehalte der Einzelfrüchte [mg/Frucht] (Sibirische Hauspaprika, Anbaujahr 2002)

9.2.4 Cayenne, Pflanze a (Anbaujahr 2001)

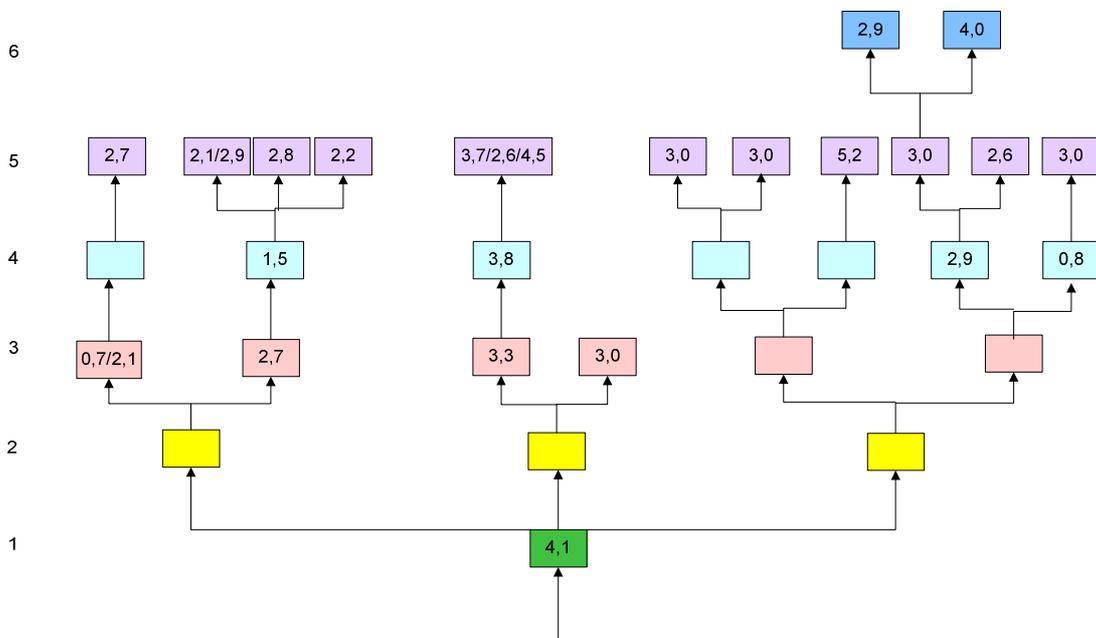


Abbildung 56: Gewichte der Einzelfrüchte [g] (Cayenne, Pflanze a, Anbaujahr 2001)

Die Fließdiagramm mit dem Alter und den Capsaicinoidgehalten der Einzelfrüchte wurden in Kapitel 2.1.2 genannt.

9.2.5 Cayenne, Pflanze b (Anbaujahr 2001)

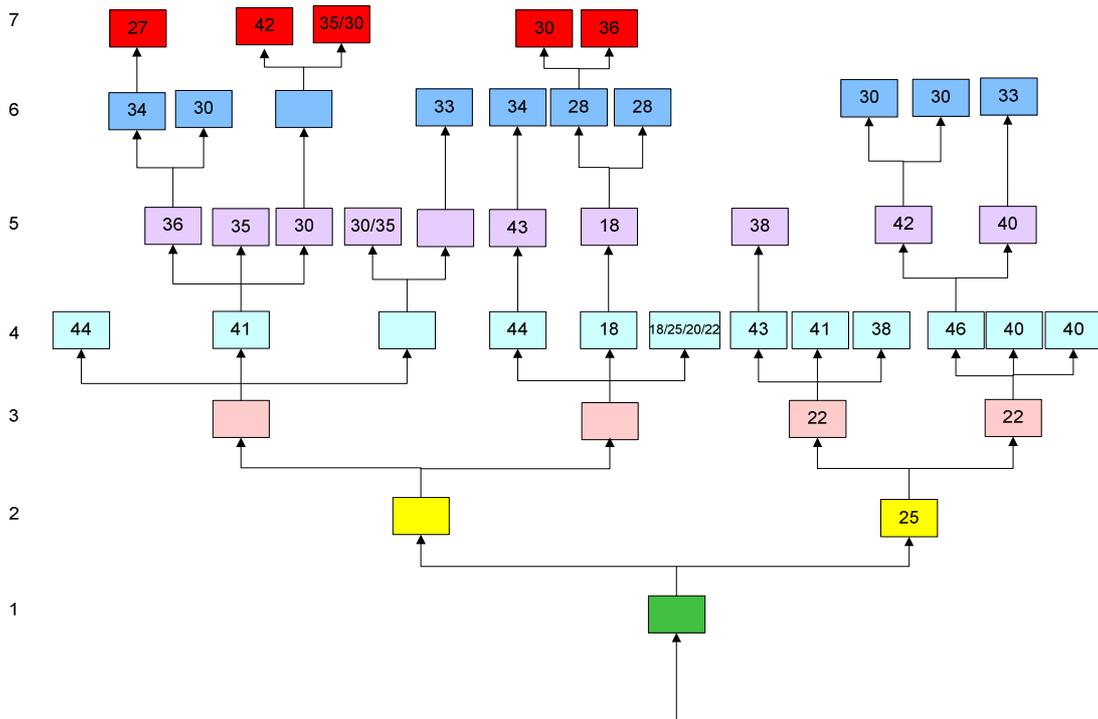


Abbildung 57: Alter der Einzelfrüchte [d] (Cayenne, Pflanze b, Anbaujahr 2001)

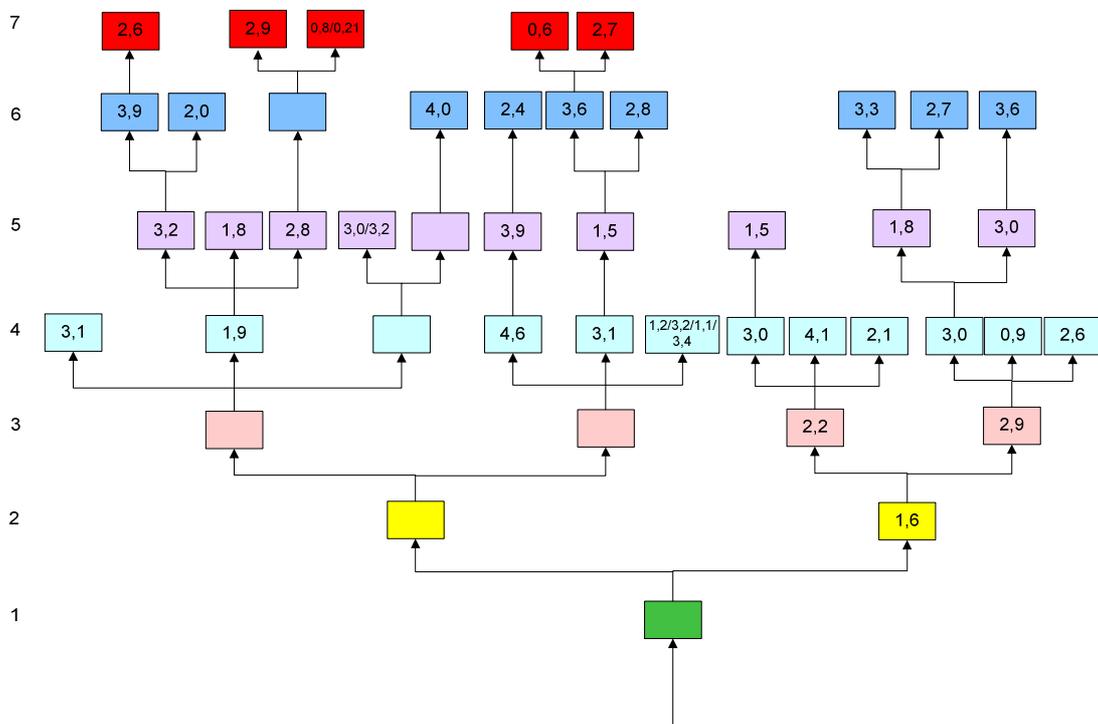


Abbildung 58: Gewichte der Einzelfrüchte [g] (Cayenne, Pflanze b, Anbaujahr 2001)

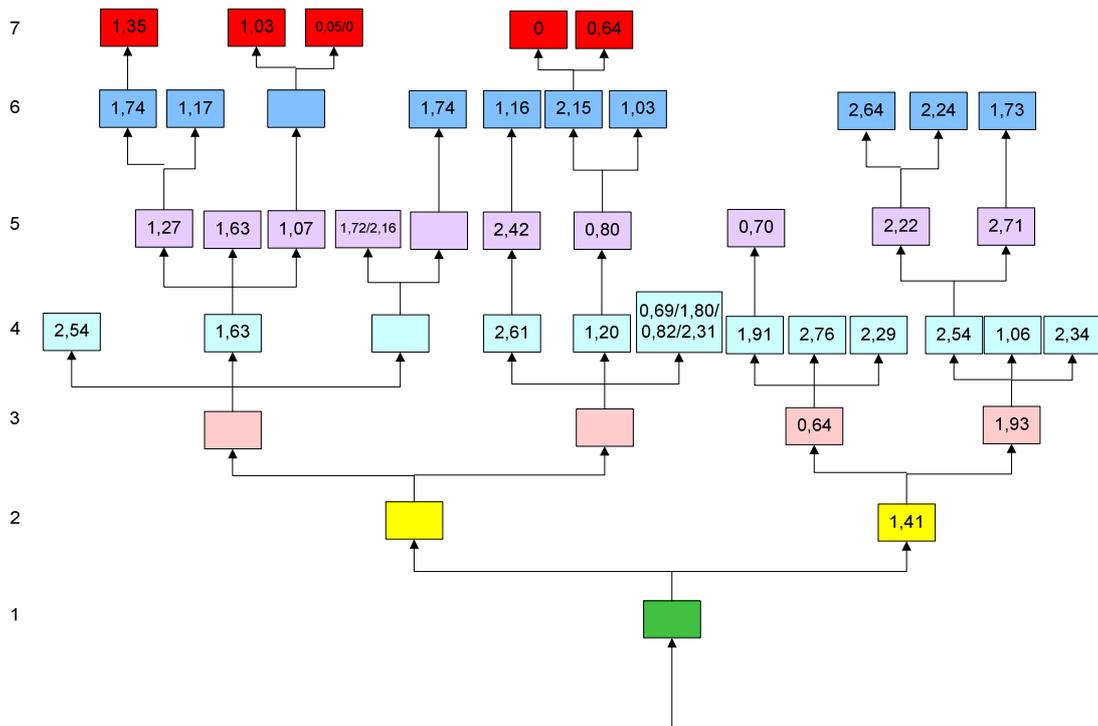


Abbildung 59: Capsaicinoidgehalte der Einzelfrüchte [mg/Frucht] (Cayenne, Pflanze b, Anbaujahr 2001)

9.2.6 De Arból, Pflanze a (Anbaujahr 2001)

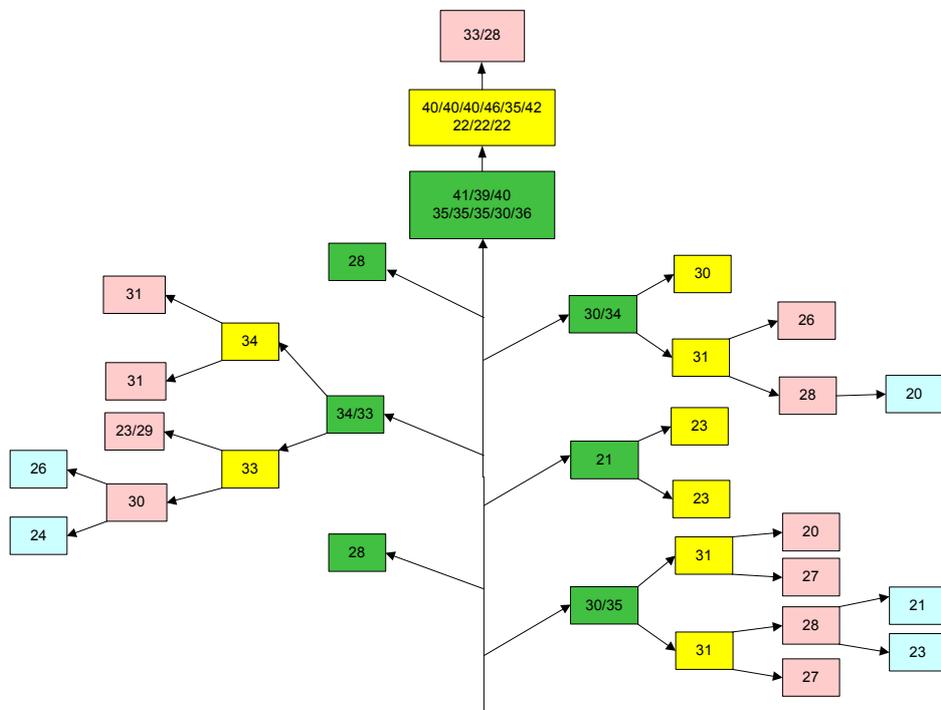


Abbildung 60: Alter der Einzelfrüchte [d] (De Arból, Pflanze a, Anbaujahr 2001)

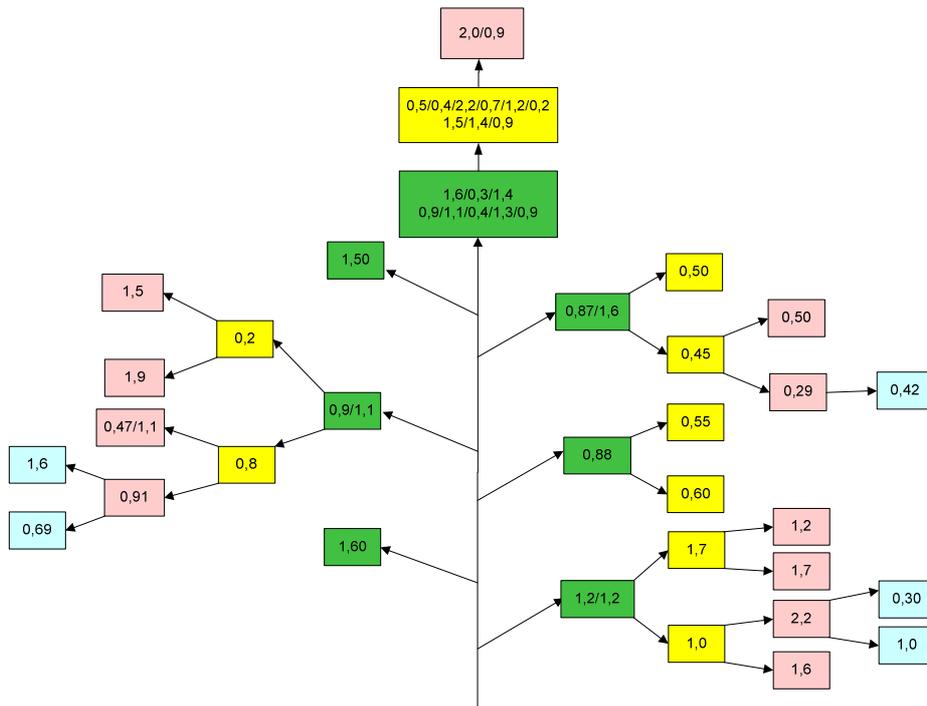


Abbildung 61: Gewichte der Einzelfrüchte [g] (De Arból, Pflanze a, Anbaujahr 2001)

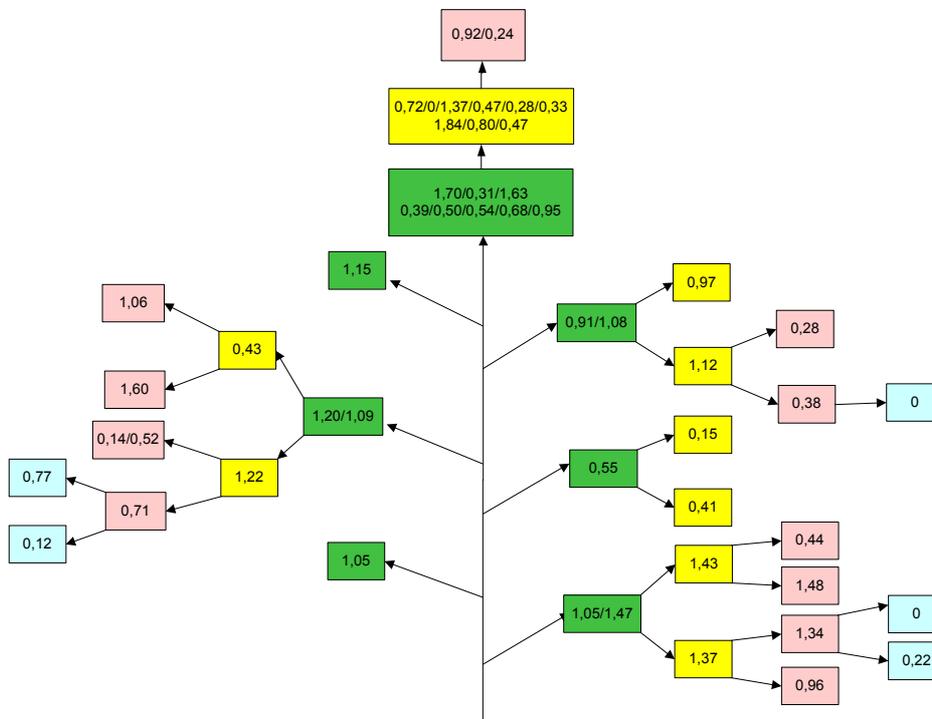


Abbildung 62: Capsaicinoidgehalte der Einzelfrüchte [mg/Frucht] (De Arból, Pflanze a, Anbaujahr 2001)

9.2.7 De Arból, Pflanze b (Anbaujahr 2001)

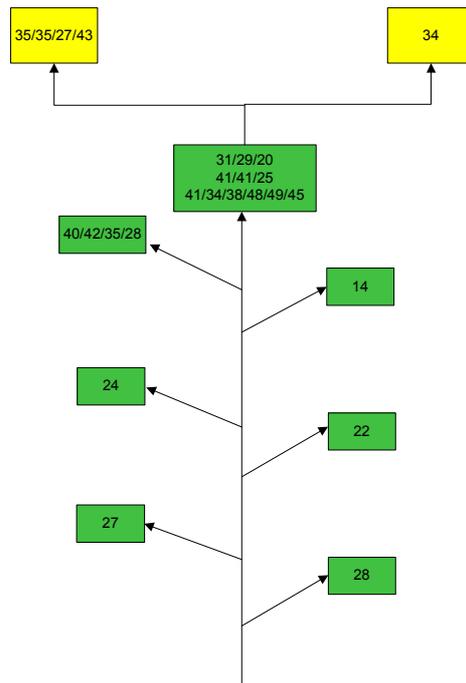


Abbildung 63: Alter der Einzelfrüchte [d] (De Arból, Pflanze b, Anbaujahr 2001)

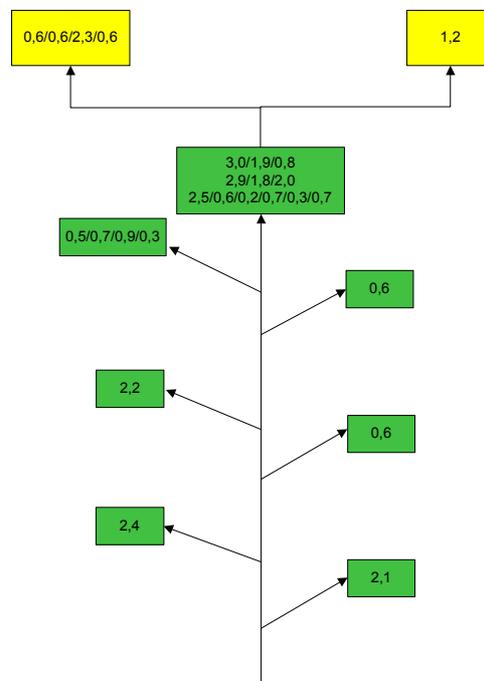


Abbildung 64: Gewichte der Einzelfrüchte [g] (De Arból, Pflanze b, Anbaujahr 2001)

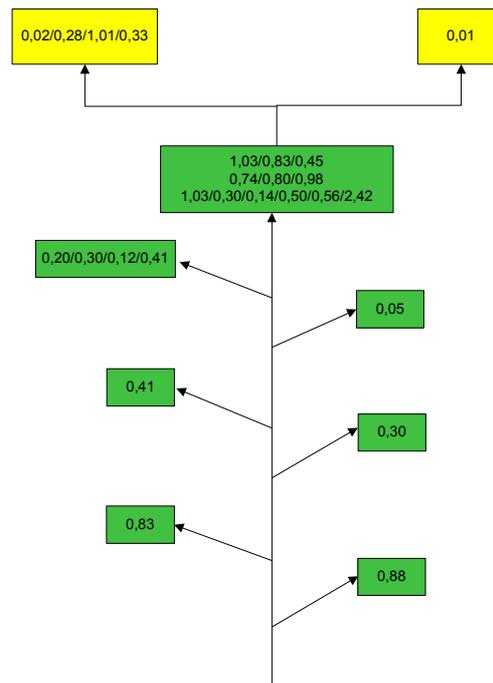


Abbildung 65: Capsaicinoidgehalte der Einzelfrüchte [mg/Frucht] (De Arból, Pflanze b, Anbaujahr 2001)

### 9.3 Abkürzungsverzeichnis

C	Capsaicin
C.	<i>Capsicum</i>
Caps.	Capsaicinoide
DC	Dihydrocapsaicin
d.h.	das heißt
Dierb.	J. H. Dierbach
et al.	et alii
GT	Gefriertrocknung
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie
i. Allg.	im Allgemeinen
Jacqu.	N. J. Baron von Jacquin
Konz.	Konzentration
KS	Kühlschrank
L.	C. von Linné
Mill.	Ph. Miller
Mio.	Million

---

NDC	Nordihydrocapsaicin
PSVA	Pelargonsäurevanillylamid
RT	Raumtemperatur
TK	Tiefkühlung
z. B.	zum Beispiel

## Lebenslauf

### Persönliche Angaben

Name: Constanze Hiepler  
Geboren: am 28.01.1975 in Berlin  
Familienstand: ledig  
Nationalität: deutsch

### Ausbildung

1985-1994 Gymnasium in Leverkusen, Abschluss mit Allgemeiner Hochschulreife (Note: 1,3)  
10/94 - 05/99 Studium der Lebensmittelchemie an der Bergischen Universität Wuppertal  
05/99 1. Staatsexamen (Abschluss: sehr gut)  
Wahlpflichtfach: Chemie, Technologie und Analytik von Biociden  
11/99 - 12/00 Praktisches Jahr  
Lebensmittelchemisches Institut des Bundesverbandes der Dt. Süßwarenindustrie, Köln  
Lebensmittelüberwachungsamt Remscheid  
Chemisches Untersuchungsinstitut Bergisch Land, Wuppertal  
12/00 2. Staatsexamen (Abschluss: gut)  
01/01 - 05/04 Doktorarbeit bei Prof. Dr. M. Petz an der Universität Wuppertal (Abschluss: summa cum laude),  
Thema: „Capsaicinoide in *Capsicum*-Früchten definierter Herkunft und ihre Stabilität bei Verarbeitung und Lagerung“

### Berufliche Tätigkeiten

06/99 - 10/99 Wissenschaftliche Angestellte beim DFG-Projekt an der Universität Wuppertal „Identifizierung und Charakterisierung von Capsaicinoiden und Farbe in frischem und verarbeitetem Gewürzpaprika“  
01/01 - 02/04 Wissenschaftliche Angestellte an der Universität Wuppertal  
07/01 - 08/03 Dozentin im Fach „Biochemie der Ernährung“ in der Diät-Lehranstalt des Helios-Klinikums Wuppertal

Wuppertal, 01. Juni 2004