



## Horizontaler Naturstofftransfer:

### Nachweis und Grundlagen eines bislang unbekannten Phänomens

#### 1 Einleitung

Eine kontinuierliche Reduktion der Nachweisgrenzen in der modernen Analytik eröffnet die Möglichkeit, auch Spuren von Substanzen nachzuweisen. Der Einsatz derartiger Analyse- und Extraktionsverfahren hat dazu geführt, dass immer häufiger Rückstände zahlreicher gesundheitsschädlicher Substanzen in pflanzlichen Nahrungs- und Genussmitteln nachgewiesen werden können. Neben naturfremden Stoffen wie z.B. vielen synthetischen Pestiziden, wurden in den letzten Jahren auch vermehrt toxische Naturstoffe, wie Nicotin oder Pyrrolizidinalkaloide, in pflanzlichen Produkten detektiert (EFSA 2011; Mulder et al. 2015; Bundesinstitut für Risikobewertung 2013). Da in den meisten Fällen das natürliche Vorhandensein dieser Naturstoffe lediglich auf bestimmte Gruppen des Pflanzenreichs beschränkt ist (für einen Überblick siehe Pichersky und Lewinsohn 2011) und für die jeweiligen Nahrungspflanzen ein Vorkommen dieser Substanzen nicht bekannt war, stellte sich die Frage nach deren Ursprung (Mulder et al. 2015; EFSA 2011).

Eine Möglichkeit, die in Betracht gezogen werden muss, ist eine endogene Biosynthese. So wurde beispielsweise das Vorhandensein von Nicotin, dem Hauptalkaloid des Tabaks, in Tomaten, Kartoffeln, Auberginen oder Paprika in der Literatur damit erklärt, dass auch diese Solanaceen – genau wie die Tabakpflanze – in der Lage sind, in geringem Umfang Nicotin zu synthetisieren (Andersson et al. 2003). Aufgrund der sensibler gewordenen Nachweismethoden und der deutlich gesteigerten Zahl routinemäßiger Analysen pflanzlicher Produkte, ist es durchaus vorstellbar, dass eine endogene Nicotinbiosynthese im Spurenbereich nun auch in weiteren Pflanzenfamilien nachgewiesen werden kann. Diese Vermutung wird unterstützt durch die Aufklärung der phylogenetischen Ursprünge des Sekundärstoffwechsels. So konnte gezeigt werden, dass die Schlüsselenzyme der Nicotin- und Pyrrolizidinalkaloid-Biosynthese jeweils durch Genduplikationen aus Primärstoffwechsel-Enzymen entstanden sind und nur einige wenige Mutationsereignisse notwendig waren, um deren Funktion zu konvertieren (Kaltenegger et al. 2013; Junker et al. 2013). Eine endogene Biosynthese ist also grundsätzlich nicht auszuschließen.

Alternativ zur endogenen Biosynthese steht ein exogener Ursprung (vgl. Abbildung 1-1). Hierbei kann grundsätzlich unterschieden werden zwischen einem rein mechanischen Eintrag, wie z.B. durch die Miternte von Beikräutern, einem Eintrag über Pollen, Sprühlösungen oder Stäuben und einer echten Aufnahme pflanzenfremder Naturstoffe.

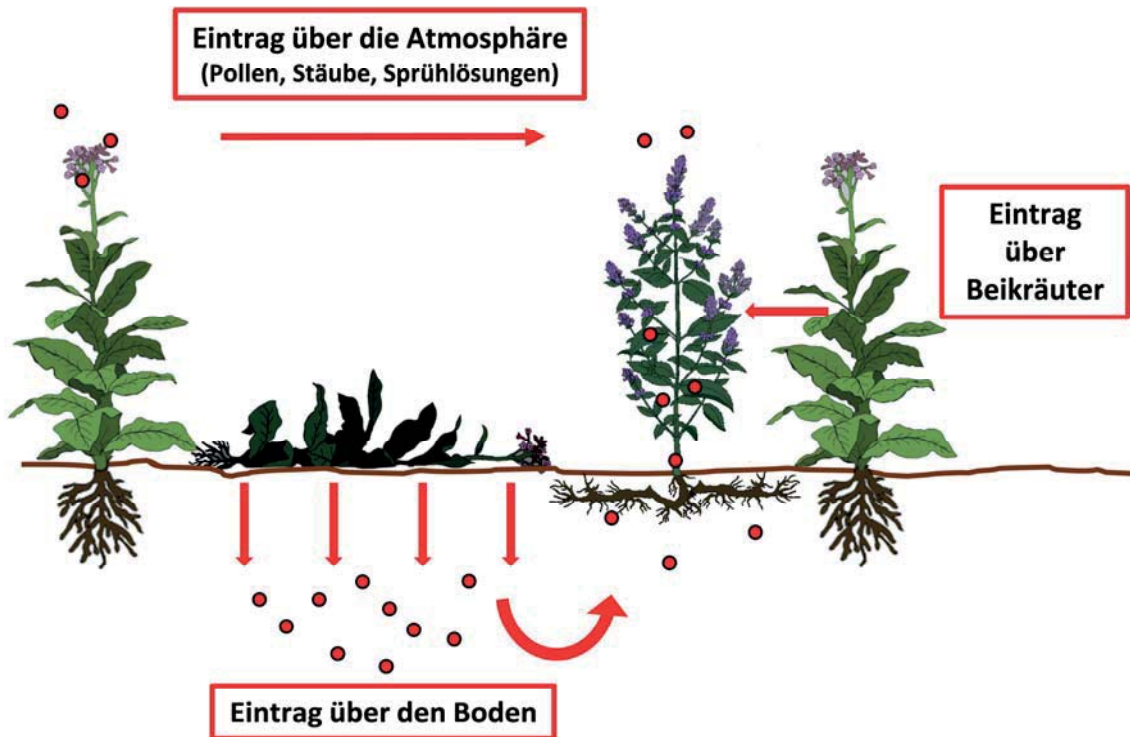


Abbildung 1-1: Exogener Eintrag von Naturstoffen

Bei leicht flüchtigen Substanzen wie dem Nicotin kann ein derartiger echter Transfer direkt über die Atmosphäre erfolgen (Selmar et al. 2015a), in allen anderen Fällen muss es zur Übertragung von gelösten Substanzen über die Wurzel kommen. In diesem Zusammenhang kommt der Aufnahme aus dem Boden eine besondere Bedeutung zu. Einem solchen *Horizontalen Naturstofftransfer*, der im Zentrum dieser Dissertation steht, wurde bislang kaum Beachtung geschenkt. Dies ist nur schwer nachvollziehbar, denn es ist seit langem bekannt, dass sowohl Rückstände von Arzneimitteln (Boxall et al. 2006; Carter et al. 2014) als auch auf den Boden applizierte, systemisch wirkende Insektizide, wie z.B. Neonicotinoide, über die Wurzeln aufgenommen und in die Blätter verlagert werden (Juraske et al. 2009). Darum ist es denkbar, dass nicht nur diese eben genannten Xenobiotika aufgenommen werden, sondern auch Substanzen mit vergleichbaren physikochemischen Eigenschaften, wie z.B. Nicotin oder andere Alkaloide. Dementsprechend liegt es nahe anzunehmen, dass Pflanzen tatsächlich Naturstoffe, die z.B. aus verrottendem Pflanzenmaterial ausgeschwemmt wurden, aus dem Boden aufnehmen können. Es sollten sich nicht nur die Pestizide, deren Aufnahme ja durchaus erwünscht ist, in den jeweiligen Akzeptorpflanzen nachweisen lassen, sondern auch entsprechende pflanzliche Naturstoffe aus Donorpflanzen.

Ziel dieser Arbeit ist es, zu untersuchen, ob es eine Übertragung von Naturstoffen aus abgestorbenen Donorpflanzenteilen über den Boden in die Akzeptorpflanzen gibt. In Anlehnung an

den Begriff *Horizontaler Gentransfer* (für weiterführende Literatur zu dem Phänomen des Horizontalen Gentransfers sei hier das Buch von Syvanen und Kado 2002 erwähnt) wird ein derartiger Übergang als *Horizontaler Naturstofftransfer* bezeichnet und als neues, bisher kaum beachtetes Phänomen pflanzlicher Interaktionen diskutiert.

Ausgehend von der Aufklärung der Herkunft des Nicotins in pflanzlichen Lebensmitteln, konzentrierte sich meine Dissertation zunächst auf dieses Alkaloid. Bestärkt durch die vielversprechenden, positiven Befunde der Nicotin-Aufnahme in unterschiedliche Akzeptorpflanzen und vor dem Hintergrund des aktuellen Forschungsbedarfs bezüglich der Pyrrolizidinalkaloide (PA) in pflanzlichen Lebensmitteln, habe ich das Thema zunächst auf PA ausgeweitet und schließlich weitere interessante Alkaloidgruppen integriert. Im weiteren Verlauf der Studien wurde zur Veranschaulichung des neu entdeckten *Horizontalen Naturstofftransfers* zusätzlich auch die Aufnahme von Pigmenten aus Roter Bete untersucht.

Die vorgestellten Ergebnisse zeigen bisher unterschätzte Wege für die Übertragung von Substanzen zwischen Pflanzen und ihrer Umwelt auf. Sie bieten nicht nur eine plausible Erklärung für das unerwartete Vorkommen von Nicotin und Pyrrolizidinalkaloiden in vielen pflanzlichen Produkten, sondern zeigen bislang nicht berücksichtigte chemische Wechselwirkungen zwischen Pflanzen auf, die unser Verständnis von der Tragweite des Naturstofftransfers – bisher hauptsächlich mit der Allelopathie in Verbindung gebracht – nachhaltig beeinflussen können.



## 2 Grundlagen

Im Zentrum dieser Arbeit steht der Transfer von Alkaloiden von Donor- zu Akzeptorpflanzen. Da es sich bei diesen Naturstoffen um chemisch sehr heterogene Verbindungen des pflanzlichen Sekundärstoffwechsels handelt, sind zum Verständnis der Ergebnisse und zur weiteren Schlussfolgerung einige Grundlagen des pflanzlichen Metabolismus erforderlich. Diese sind im folgenden Kapitel zusammengestellt. Außerdem erfolgt eine kurze Beschreibung der chemischen Besonderheiten der hier analysierten Alkaloidgruppen.

Des Weiteren werden an dieser Stelle – der Vollständigkeit halber – mögliche endogene und exogene Quellen der in pflanzlichen Lebensmitteln detektierten Kontaminationen erörtert.

Da der Schwerpunkt dieser Dissertation auf der Aufnahme von Alkaloiden aus dem Boden und deren Verlagerung innerhalb der Pflanze liegt, fördert ein physiologischer Exkurs über Bau und Funktion höher entwickelter Gefäßpflanzen das Verständnis der hier präsentierten komplexen Thematik. Dabei wird besonders auf den Phloem- bzw. Xylem-assoziierten Langstreckentransport innerhalb der Pflanze eingegangen.

### 2.1 Pflanzliche Sekundärmetabolite – grundsätzliche Aspekte

Sekundärmetabolite sind pflanzliche Stoffwechselprodukte, die nicht dem Primärmetabolismus, also dem Energie- und Baustoffwechsel, zugeordnet werden. Der Primär- oder auch Grundstoffwechsel, welcher universell und ubiquitär in allen Pflanzen vorhanden ist, gilt als hochkonserviert und lebensnotwendig. Auch die Grundbausteine des Sekundärstoffwechsels gehen aus diesem Metabolismus hervor (Schopfer und Brennicke 2010). Als Sekundärstoffwechsel werden alle Reaktionen eingestuft, die nicht zum Überleben einer einzelnen, idealisierten Zelle notwendig sind, sondern deren Bedeutung auf das Überleben der Pflanze in der Umwelt beruht. Allerdings stoßen diese auf den ersten Blick sehr eindeutigen Definitionen häufig an ihre Grenzen, vor allem wenn es um Übergangsbereiche zwischen Primär- und Sekundärstoffwechsel geht (Hartmann 1985, 1996, 2007).

Verglichen mit dem Primärstoffwechsel bietet der Sekundärstoffwechsel ein weit größeres Spektrum an chemischen Verbindungen. In der Regel ist das Vorkommen der Sekundärstoffe auf einige Organe oder Gewebe begrenzt (Dawson und Solt 1959; Hartmann et al. 1989; Ziegler und Facchini 2008; Schopfer und Brennicke 2010). Es ist davon auszugehen, dass sich der Sekundärstoffwechsel im Zuge der Evolution aufgrund vieler selektionswirksamer Vorteile der Sekundärmetabolite entwickelt hat. So wirken viele Verbindungen als Repellent gegen Herbivore (Hartmann 1999; Mithöfer und Boland 2012), als Schutz gegen Pathogene (z.B. Alkaloide, Glucosinolate und cyanogene Glycoside) oder als Attraktoren für bestäubende und samenverbreitende Organismen (Anthocyane, Betalaine als Farbstoffe in Blüten und



Früchten, sowie Terpene als olfaktorische Lockmittel) (Pichersky und Lewinsohn 2011). Darüber hinaus sind die Sekundärstoffe an der Reduktion abiotischer Stressoren beteiligt (Schutzpigmente, Osmotika, u.a.). Außerdem zeigen aktuelle Ergebnisse, dass die Biosynthese von hochreduzierten Naturstoffen auch Bedeutung bei der Ableitung überschüssiger Elektronen bei CO<sub>2</sub>-Verknappung unter Trockenstress hat (Behnke et al. 2007; Nowak et al. 2010; Selmar und Kleinwächter 2013).

Historisch gesehen wurde den Sekundärstoffen zunächst keine Funktion zugeschrieben. Diese Verbindungen sind häufig als Abfall- und/oder Endprodukte deklariert worden (Reznik 1960; Wink 2010; Pichersky und Lewinsohn 2011). Später bekamen diese Verbindungen Bezeichnungen wie 'natural compounds' oder 'phytochemicals'. Allerdings sind auch diese Bezeichnungen nicht optimal gewählt, denn prinzipiell ist natürlich jedes Stoffwechselprodukt einer Pflanze sowohl Naturstoff (natural compound), als auch Phytochemikalie (phytochemical). Auch 'Sekundärmetabolit' als Begriff impliziert eine hierarchische Struktur der Stoffwechselwege und kann fälschlicherweise mit 'Funktionslosigkeit' gleichgesetzt werden, wie Hartmann (2007), Wink (2010), Pichersky und Lewinsohn (2011) sehr anschaulich diskutieren.

In den letzten Jahrzehnten konnte vielen der sekundären Pflanzenstoffe eine konkrete Funktion zugeordnet werden. Auch allelopathische Funktionen, wie die Unterdrückung von Konkurrenzpflanzen durch keimungshemmende Substanzen, sind belegt (Rietveld 1983). Die vielfältigen Interaktionen zwischen Pflanzen untereinander und ebenso mit anderen Organismen haben zur Entwicklung und Etablierung der Ökologischen Biochemie (für einen Überblick siehe Harborne 1993) geführt.

Die bereits genannten selektionswirksamen Vorteile bieten eine Erklärung, warum sowohl die divergente, als auch die konvergente Evolution im pflanzlichen Sekundärstoffwechsel vorkommen<sup>1</sup>. Divergent insofern, als dass sich aus Enzymen des Primärmetabolismus Genduplikationen bilden, spezialisieren und etablieren konnten, welche Reaktionen des Sekundärmetabolismus ausführen; konvergent, weil es zahlreiche Beispiele unabhängig voneinander entwickelte chemische Verbindungen gibt, mit einer ähnlichen bzw. derselben Funktion im Pflanzenreich (Pichersky und Lewinsohn 2011).

---

<sup>1</sup> Basierend auf diesen vielseitigen, nachgewiesenen Funktionen ist die Annahme einer scheinbar zielgerichteten Evolution irreführend (Selmar 2009) und eine implizierte hierarchische Gliederung durch Einteilungen wie Primär- und Sekundärmetabolismus sicherlich nicht die beste Wahl. Da es sich allerdings bei Bezeichnungen wie *Naturstoff*, *Primär-* und *Sekundärmetabolit* und *Primär-* und *Sekundärstoffwechsel* um gängige Begriffe handelt, werden diese der Verständlichkeit halber in dieser Arbeit auch weiter verwendet werden.

Mittlerweile sind über 200.000 strukturell sehr diverse, chemische Verbindungen aus dem pflanzlichen Sekundärstoffwechsel beschrieben (Hartmann 2007; Wink 2010). Dennoch kommen – vor allem durch den Fortschritt in den analytischen Methoden – immer wieder zahlreiche, bislang unbekannte Verbindungen hinzu (Paulsen et al. 2015). Ein Grund hierfür ist, dass bislang erst etwa 20-30 % aller Pflanzen überhaupt phytochemisch untersucht sind (Wink 2010). Darüber hinaus bestehen noch große Lücken sowohl bei der Aufklärung der Biosynthesewege (Junker et al. 2013) als auch im Verständnis der Transportmechanismen dieser Verbindungen (Pakdeechanuan et al. 2012). In dieser Arbeit wurden hauptsächlich Alkaloide untersucht.

## 2.2 Alkaloide

Die Gruppe der Alkaloide ist eine biochemisch sehr heterogene Gruppe. (Ziegler und Facchini 2008; Habermehl et al. 2008 oder Mithöfer und Boland 2012). Alkaloide sind definiert als basische Naturstoffe mit einem Stickstoff-Heterozyklus, dessen Kohlenstoffgerüst sich weitgehend aus Aminosäuren ableitet (Habermehl et al. 2008; Ziegler und Facchini 2008). Diesen 'echten' Alkaloiden werden die sogenannten Protoalkaloide und die Pseudoalkaloide gegenübergestellt. Bei den Protoalkaloiden, wie z.B. dem Colchicin, ist der Stickstoff nicht heterozyklisch gebunden; deshalb repräsentieren sie strenggenommen komplexe Amine. Im Gegensatz dazu weisen die Pseudoalkaloide zwar einen Stickstoff-Heterozyklus auf, werden jedoch nicht direkt aus Aminosäuren synthetisiert. Der bekannteste Vertreter der Pseudoalkaloide ist das Coffein.

Aufgrund der großen strukturellen Vielfalt dieser stickstoffhaltigen Naturstoffe, werden im folgenden Abschnitt die hier untersuchten Alkaloide kurz vorgestellt und deren chemische Besonderheiten erläutert.

### 2.2.1 Nicotin

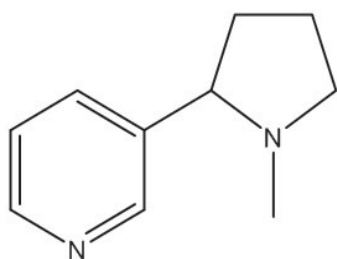


Abbildung 2-1: Nicotin

Nicotin ist das Hauptalkaloid der Tabakpflanze (*Nicotiana tabacum*). Tabak gehört zu der Familie der Solanaceae. Für andere Vertreter dieser Familie sind ebenfalls geringe Gehalte an Nicotin beschrieben (Sheen 1988; Davis et al. 1991; Siegmund et al. 1999), wobei zum Zeitpunkt dieser Analysen der Einsatz von Nicotin als Insektizid noch erlaubt war (Domino et al. 1993). Einen umfassenden Überblick bieten hier Andersson et al. (2003). In älteren Literaturquellen finden sich Angaben über

weitere Nicotin-Vorkommen in anderen Pflanzenarten (*Lycopodium*, *Equisetum*, *Erythroxylum*, *Asclepias*), welche nicht zugehörig zu den Solanaceae sind (Dawson et al. 1960).





Erstmals als Reinsubstanz wurde Nicotin von Posselt und Reimann (1829) beschrieben. Ausgangsstoffe für die Nicotin-Biosynthese sind die Aminosäuren Ornithin und Aspartat, die über die Zwischenprodukte Putrescin und Nicotinsäure zu Nicotin zusammengesetzt werden (Hashimoto und Yamada 1994; Katoh et al. 2005). Damit ist Nicotin als echtes Alkaloid zu klassifizieren. Obwohl es chemisch gesehen sowohl einen Pyridin-, als auch einen Pyrrolidin-Ring besitzt, wird es üblicherweise zu den Pyridin-Alkaloiden gezählt (Habermehl et al. 2008). Da beide heterozyklischen Ringsysteme ein protonierbares N-Atom besitzen, hat Nicotin- $H^+$  ( $Nic^+$ ) zwei  $pK_s$ -Werte. Der erste liegt bei einem pH von 3,1 und der zweite bei 8,0 (Seeman et al. 1999). Im Gegensatz zu den meisten anderen Alkaloiden zeigt Nicotin ein untypisches Lösungsverhalten: es ist sowohl in der protonierten Form sehr gut in organischen Lösungsmitteln löslich, als auch in unprotonierter Form in Wasser. Damit kann dieses Alkaloid nicht nach dem Standard-Extraktionsverfahren (Säure-Base-Trennungsgang) isoliert werden. Auf der anderen Seite resultiert aus dem ambivalenten Lösungsverhalten eine besonders gute Membranpermeabilität (siehe Kapitel 4.1.2).

Nicotin ist bereits bei Raumtemperatur leicht flüchtig (Posselt et al. 1829; Gorrod und Jacob 1999). Dadurch ist eine Konzentrierung des Alkaloids durch Einengen des Lösungsmittels nicht ohne größere Verluste möglich. Diese physikalische Besonderheit erschwert die quantitative Analyse und die Aufklärung der Übertragungswege: es lässt sich z.B. nur schwer zwischen dem Nicotin, welches tatsächlich aus dem Boden über die Wurzeln aufgenommen wird, und dem über die Gasphase verbreiteten Alkaloid unterscheiden (vgl. Kapitel 3.1.4). Diese Problematik muss bei den entsprechenden Versuchsansätzen stets beachtet werden.

Ein weiterer Punkt, der bei der Aufklärung der Kontaminationspfade von Nicotin nicht vernachlässigt werden darf, ist eine mögliche endogene Biosynthese (vgl. Kapitel 2.4). Zwar spielt im Fall der meisten Versuchspflanzen (z.B. Kamille, Gerste und Kaffee) eine solche Biosynthese keine Rolle, da die jeweiligen Kontrollpflanzen frei von Nicotin waren; doch aufgrund der Nicotin-Funde in den unbehandelten Kontrollpflanzen von Tee, Erdbeere und Pfefferminze kann ein solcher Prozess nicht vollständig ausgeschlossen werden. Allerdings ist es möglich, dass es sich bei diesen Nicotin-Vorkommen auch um Kontaminationen aus der Umgebung handelt. Da die Pflanzen aus dem regulären Gartenhandel bezogen wurden, können exogene Quellen wie Tabakrauch, Zigarettenreste etc. nicht vollständig ausgeschlossen werden.

### 2.2.2 Pyrrolizidinalkaloide

Bis heute sind mehr als 350 verschiedene Pyrrolizidinalkaloide (PA) und deren *N*-Oxide (Kaltenegger et al. 2013) in knapp 600 verschiedenen Pflanzenarten bekannt. Schätzungen zufolge gibt es ein PA-Vorkommen in über 6000 Spezies (Hartmann und Witte 1995). PA

kommen in mehreren phylogenetisch weit entfernten Familien vor (Asteraceae, Boraginaceae, Fabaceae, Convolvulaceae, u.a.) (Habermehl et al. 2008; Kaltenecker et al. 2013), so dass eine unabhängige evolutionäre Entwicklung angenommen wird (Ober und Kaltenecker 2009; Kaltenecker et al. 2013). Die bekanntesten PA-Pflanzen finden sich in den Gattungen *Senecio*, *Crotalaria*, *Heliotropium*, *Echium*, *Trichodesma* und *Symphytum* (Crews et al. 2010).

Das chemische Grundgerüst der Pyrrolizidinalkaloide ergibt sich durch eine Veresterung des Pyrrolizidin-Grundkörpers (vgl. Abbildung 2-2), der auch als Necinbase bezeichnet wird, mit einer Necinsäure (Hartmann 1994; Hartmann und Dierich 1998).

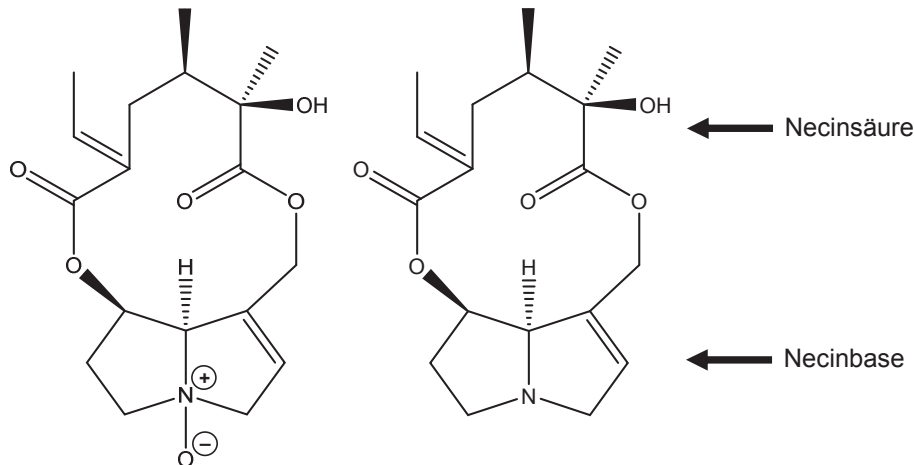


Abbildung 2-2: Pyrrolizidinalkaloid (hier Senecionin) und sein entsprechendes *N*-Oxid (v.r.n.l.)

Innerhalb der Pflanze werden die PA in der Form der jeweiligen *N*-Oxide verlagert (Hartmann et al. 1989; Hartmann und Witte 1995). Diese Transportmetabolite sind polarer als die tertiären Amine, so dass ihre Löslichkeit in wässrigen Systemen gesteigert ist (Ehmke et al. 1988; Hartmann 1994). Die Verlagerung aus den Wurzeln, dem Ort ihrer Biosynthese (*source*-Organ), in die entsprechenden *sink*-Organe, wie Blüten oder Früchte, erfolgt bei den PA über das Phloem (Ehmke et al. 1988; Hartmann et al. 1989). Bisher wurde oftmals angenommen, dass die Erhöhung der Löslichkeit der entscheidende Faktor für die Synthese und Verlagerung der *N*-Oxide ist. Basierend auf den in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnissen wird in der Diskussion die Bedeutung des Faktors Membranpermeabilität (Lindigkeit et al. 1997) ergänzend erörtert (vgl. Kapitel 4.2.2) und die Rolle der *N*-Oxide unter diesem Gesichtspunkt betrachtet.

### 2.2.3 Purinalkaloide

Das Grundgerüst der Purinalkaloide ist das Xanthin, welches sich biosynthetisch aus dem Purin-Stoffwechsel ableitet (vgl. Übersichtsartikel von Ashihara et al. 2007, sowie Habermehl et al. 2008). Da keine Aminosäure direkt an der Synthese der Purinalkaloide beteiligt ist, werden diese als Pseudoalkaloide klassifiziert. In dieser Arbeit untersucht wurden Coffein (1,3,7-Trimethylxanthine), Theobromin (3,7-Dimethylxanthin) und Theophyllin (1,3-Dimethylxanthine).



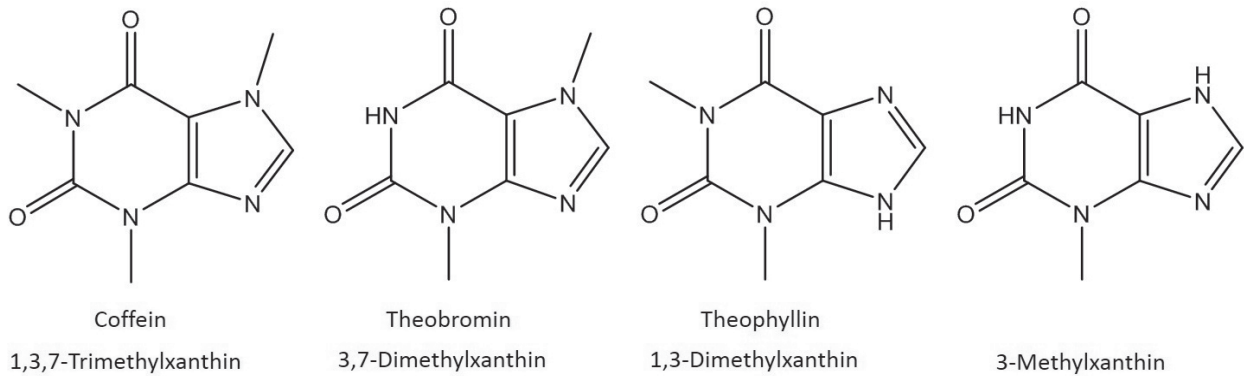


Abbildung 2-3: Strukturformel der in dieser Arbeit untersuchten Xanthinderivate

Neben den bereits erwähnten drei Purinalkaloiden ist in Abbildung 2-3 auch die Struktur des 3-Methylxanthins dargestellt. Es zeigte sich bei der Analyse der Mulchversuche, dass diese Substanz als Stoffwechselprodukt aufgetaucht ist (vgl. Kapitel 3.3.1). 3-Methylxanthin ist ein Katabolit, welcher bei der Verstoffwechselung von Coffein, Theophyllin und Theobromin hin zum Xanthin in Kaffeepflanzen bereits bekannt ist (Ashihara et al. 2007).

Unter allelopathischen Gesichtspunkten ist bekannt, dass Coffein eine keimungshemmende Wirkung hat und autotoxisch für Kaffee-Sträucher (Friedman und Waller 1983) ist. Um den Effekt der Keimungshemmung möglichst gering zu halten, gibt es mittlerweile Ansätze einer Co-Kultur in Kaffee-Plantagen mit dem positiven Nebeneffekt, dass auch in der Nebensaison die Flächen mit z.B. aromatischen Kräutern für die Gewürz-Produktion zwischen den Kaffee-Sträuchern genutzt werden (Pacheco Bustos et al. 2008). Ob dabei das in den Boden ausgeschwemmte Coffein von den jeweiligen Gewürzpflanzen aufgenommen wird, wurde in der hier zitierten Arbeit nicht weiter analysiert. Aufgrund des keimungshemmenden Effekts ist Coffein eine Allelochemikalie (Wink 1993).

#### 2.2.4 Farbstoffe – natürliche Pigmente aus Rote Bete

Der Vorteil bei der Applikation farbiger Substanzen besteht darin, dass die Aufnahme ohne die Verwendung analytisch aufwendiger Verfahren rein visuell detektiert werden kann. Die in dieser Arbeit verwendeten Farbstoffe waren sowohl natürlichen als auch synthetischen Ursprungs. Die Ergebnisse der Versuche mit synthetischen Farbstoffen sind im Anhang dargestellt. Bei den Farbstoffen natürlichen Ursprungs handelt es sich um einen Gesamtprossknollenextrakt von Rote Bete (*Beta vulgaris*). Die in der intakten Pflanze vorkommende Hauptkomponente ist das Betanin (Betanidin 5-O- $\beta$ -glucosid). Dieses wird zu der Gruppe der Betalaine gezählt und besteht aus dem Aglycon Betanidin und einem

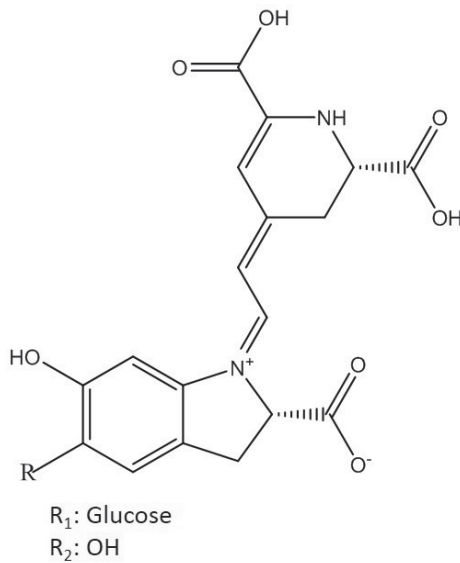


Abbildung 2-4: Struktur von Betanin und Betanidin

Glukosemolekül. Chemisch gesehen (heterozyklisches, Stickstoff-haltiges Ringsystem, synthetisiert aus der nicht-proteinogenen Aminosäure L-DOPA und Betalaminsäure) handelt es sich bei dem Betanidin um ein bisher (EFSA ANS Panel 2015) als ungiftig klassifiziertes Alkaloid und es wird aufgrund seiner Stabilität bei pH-Werten zwischen 3-7 (Herbach et al. 2006) in der Lebensmittelproduktion häufig als Farbstoff verwendet (EFSA ANS Panel 2015). Für weiterführende Literatur siehe Strack et al. 2003. Störender Einflussfaktor bei der Extraktion und Analyse von Betanin und Betanidin ist deren Empfindlichkeit gegenüber oxidativen Prozessen (Wybraniec und Michałowski 2011), sowie thermischer Decarboxylierungen (Nemzer et al. 2011).

## 2.3 Exogene Ursachen der Alkaloid-Kontaminationen – Übertragungswege

Nachdem die in dieser Dissertation untersuchten Substanzen vorgestellt wurden, werden im folgenden Kapitel mögliche exogene Quellen aufgezeigt, die zur Kontamination ursprünglich Alkaloid-freier Pflanzen mit diesen Sekundärstoffen beitragen können, sowie die entsprechenden Übertragungswege von Donor- zu Akzeptorpflanzen. Einen guten Überblick geben hier Collins et al. (2011).

### 2.3.1 Ausschwemmung in den Boden – Quelle der Alkaloide

Ein mögliche Übertragung von Alkaloiden aus PA-haltigen oder Nicotin-enthaltenden Pflanzen (Donorpflanzen) auf andere, in räumlicher Nähe wachsende Pflanzen (Akzeptorpflanzen) besteht im sogenannten horizontalen Naturstofftransfer. Eine Rolle hierbei könnten z.B. die Co- oder Wechselkulturen auf Äckern im Fall des Tabaks spielen. Würden Tabakpflanzen in räumlicher oder zeitlicher Nähe gehalten, könnte es durch im Boden verbleibende Wurzelreste oder verrottende oberirdische Pflanzenteile zum Eintrag von Nicotin in den Boden kommen. Das ausgeschwemmte Nicotin könnte über die Wurzeln der Akzeptorpflanzen aufgenommen und über den Transpirationsstrom in die Blätter verlagert werden. In diesem Fall würde es sich um eine passive Aufnahme der Alkaloide handeln. Derselbe passive Vorgang kommt auch für die Übertragung von PA aus entsprechenden Donorpflanzen in Frage. Neben Nicotin wird in dieser Arbeit der horizontale Naturstofftransfer exemplarisch auch für Greiskraut (*Senecio spec.*) als PA-haltige Pflanze untersucht. *Senecio*-Arten werden, im Gegensatz zu Tabak, nicht als Kulturpflanze angebaut, sondern kommen natürlicherweise in der