Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 78 (1987)

Heft: 2

Artikel: Orientierende Untersuchung zum Vorkommen von Rishitin in Kartoffeln = A preliminary study of the occurrence of rishitin in potatoes

Autor: Dick, R. / Baumann, U. / Zimmerli, B.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-982984

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 10.12.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **78**, 200–207 (1987)
Eingegangen 14. Januar 1987. Angenommen 19. Januar 1987

Orientierende Untersuchung zum Vorkommen von Rishitin in Kartoffeln

A Preliminary Study of the Occurrence of Rishitin in Potatoes

R. Dick, U. Baumann und *B. Zimmerli*
Bundesamt für Gesundheitswesen, Bern

Einleitung

Unter Stress vermögen verschiedenste Pflanzen Stoffe zu bilden, die in ungestörten Pflanzen nicht, oder in wesentlich geringeren Mengen, vorkommen. Solche Stoffe werden Stressmetaboliten oder *Phytoalexine* genannt. Die Stimulierung der Pflanze zur Phytoalexinbildung kann biotisch durch Infektion mit Viren, Bakterien und Pilzen oder abiotisch durch Chemikalien (z. B. Pestizide, Schwermetalle, Ozon), Strahlung (UV-, Gamma-Strahlung) und mechanische Einwirkungen (z. B. Schneiden, Quetschen) erfolgen. Der stimulierende Faktor wird als Elizitor bezeichnet (1).

Phytoalexine sind natürliche Abwehrstoffe (Biocide), mit deren Hilfe sich die Pflanze dem biotischen Stress durch Wachstumshemmung bzw. Vernichtung des pathogenen Aggressors zu entziehen versucht. Resistente Pflanzen sind häufig dadurch ausgezeichnet, dass sie effizienter Phytoalexine zu bilden vermögen. Es kann somit festgehalten werden, dass es sich bei den Phytoalexinen um biologisch aktive Stoffe handelt. Um so erstaunlicher ist deshalb die Tatsache, dass über die Säugetiertoxikologie dieser Stoffe zurzeit noch sehr wenig bekannt ist (2, 3).

Dass auch viele Nahrungsmittelpflanzen unter Stress Phytoalexine zu bilden vermögen, ist sehr wohl bekannt (2). So vermag die Kartoffel (Solanum tuberosum) unter Stress eine ganze Reihe sesquiterpenoider Stressmetaboliten zu bilden (4). Diese Verbindungen wurden denn auch mit der allerdings umstrittenen Renwick-Hypothese (5) in Zusammenhang gebracht (6), die besagt, dass Inhaltsstoffe von infizierten Kartoffeln am Auftreten von Anenzephalie und Spina bifida beteiligt sein könnten.

Ziel dieser Arbeit war es, verschiedenartig gestresste Kartoffeln auf das Vorhandensein des zumeist dominanten sesquiterpenoiden Stressmetaboliten Rishitin zu untersuchen.

Experimentelles

Gewinnung von Rishitin

Vitale Kartoffeln wurden unter fliessendem Wasser mit einer Bürste gereinigt, die Oberfläche mit Ethanol benetzt und das Ethanol abgeflammt. Die Knollen wurden mit einem sterilen Messer in ca. 0,5 cm dicke Scheiben geschnitten und diese in sterile mit feuchten Rundfiltern ausgelegte Petrischalen gelegt. Mit Hilfe eines abgeflammten Glasstabes wurde je ein Topfen einer Arachidonsäure-Suspension (Elizitor 7, 8, 9) (6 mg in 2 ml sterilem Wasser, Suspendierung im Ultraschallbad) auf die Kartoffelscheiben aufgebracht und gleichmässig auf der Oberfläche verteilt. Die mit dem Elizitor behandelten Kartoffelscheiben wurden bei Raumtemperatur 72 Stunden im Dunkeln stehen gelassen. Die Isolierung des Rishitins erfolgte in Anlehnung an die Arbeit von *Henfling* und *Kuć* (10). Die nekrotischen Oberflächen wurden ca. 1 mm tief weggeschnitten, mit Methanol versetzt und intensiv vermixt. Durch Filtration über ein Glasfaservorfilter und ein Cellulosemembranfilter mit einer Porengrösse von 0,45 Mikrometer wurde ein klares gelbes Filtrat erhalten, das am Rotationsverdampfer auf ca. 3 ml engeengt wurde. Nach Zugabe von 16 ml Wasser wurde die Lösung auf eine Extrelut-Säule (Merck) aufgezogen, das Rishitin mit zwei mal 20 ml Chloroform eluiert und das Eluat am Rotationsverdampfer zur Trockene eingedampft. Der dunkelgelbe bis braune Rückstand wurde in wenig Ethylacetat gelöst, die Lösung strichförmig auf eine Kieselgel-60-Dünnschichtfolie (Merck Art. 5553) aufgetragen und mit Cyclohexan/Ethylacetat (1:1) eluiert. Zur Lokalisierung des Rishitins wurde ein schmaler Streifen der DC-Folie abgeschnitten und mit 50%iger Schwefelsäure besprüht. Rishitin ist an seiner sehr rasch auftretenden, charakteristischen rosaroten Färbung, die bald in violett bis graublau umschlägt (11) und einen Rf-Wert von 0,3 aufweist, zu erkennen. Der DC-Streifen diente als Orientierungshilfe zum Herauskratzen der auf dem übrigen Dünnschichtchromatogramm unsichtbaren interessierenden Zone. Das herausgekratzte Rishitin enthaltende Adsorbens wurde mit Ethylacetat extrahiert.

Die Charakterisierung wurde mit GC-MS (EI) vorgenommen (m/e: 222, 204, 189, 186, 175, 173, 161, 159, 147, 145, 143, 134, 133, 131, 129, 128, 121, 119, 117, 115, 107, 105, 103, 95, 93, 91). Neben dem Molekülion (222) und den für das Diol Rishitin durch Wasserabspaltung zu erwartenden Fragmenten 204 bzw. 186 ist im Fragmentierungsmuster auch die für Terpene typische Sequenz vorhanden.

Im weiteren wurde von E. Thalmann, ETH-Zürich, der Rishitingehalt unseres Standards gaschromatographisch zu 92% bestimmt.

Bestimmung von Rishitin

10 g vorzerkleinertes Kartoffelmaterial werden mit 40–50 ml Methanol versetzt und einige Minuten gemixt. Über ein mit Glasfaservorfilter versehenes

Membrancellulosefilter wird druckfiltriert (z. B. Druckfiltrationsgerät MD 050/1 aus Edelstahl, Schleicher & Schuell; Glasfaservorfilter GF 6, Durchmesser 50 mm, Schleicher & Schuell; Cellulose-Membranfilter RC 55, Durchmesser 50 mm, Porengrösse 0,45 Mikrometer, Nr. 410214 Schleicher & Schuell). Mit einigen Methanolportionen wird nachgespült. Die vereinigten klaren Filtrate werden am Rotationsverdampfer auf ca. 1 ml eingeengt. Nach Zugabe von 15 ml Wasser wird die Lösung auf eine Extrelut-Säule aufgezogen und das Rishitin mit zweimal 30 ml Chloroform eluiert. Das Eluat wird am Rotationsverdampfer zur Trockene eingeengt und der Rückstand in 900 Mikroliter Ethylacetat aufgenommen. Nach Zusatz von 100 Mikroliter Methylarachidat-Standard (0,1–0,2 mg/ml Ethylacetat) ist die Probe zur gaschromatographischen Analyse bereit.

Gaschromatographie

Gaschromatograph	Carlo Erba FV 2161 mit Elektrometer Module 180
Injektor	Carlo Erba Split-Injektor, Splitverhältnis 1:10
Detektor	Carlo Erba FID
Kapillarsäule	J & W Scientific, 23 m × 0,32 mm ID, DB-17, Filmdicke 0,25 Mikrometer
Temperaturen	Säulenofen: 3 Min. bei 152 Grad, lin. 5 Grad/Min. von 152 auf 270 Grad, 10–20 Min. bei 270 Grad Celsius ausheizen. Injektor: 275 Grad Detektor-Outlet: 300 Grad
Trägergas	Helium 0,45 bar
Injektionsvolumen	1,0 und 2,0 Mikroliter

Die Quantifizierung wurde durch Vergleich mit dem inneren Standard Methylarachidat vorgenommen, unter der Annahme eines für Kohlenstoff konstanten Responses des Flammenionisationsdetektors (12).
Die Wiederfindung auf dem Verstärkungsniveau von 2,5 mg/kg lag über 90%.
Die Nachweisgrenze (3 × Rauschen) wurde zu 0,2 mg/kg ermittelt.
Typische Gaschromatogramme sind in Abbildung 1 vorgestellt.

Vorkommen von Rishitin in gesunden und gestressten Kartoffeln

Bei allen von uns untersuchten Mustern gesunder, d. h. nicht nachweislich gestresster Kartoffeln lag der Rishitingehalt unter der Nachweisgrenze von 0,2 mg/kg (Tabelle 1).

Durch einwöchiges Kühlen gesunder Desirée-Kartoffeln auf 4 Grad Celsius konnte die Rishitinbildung nicht induziert werden. Sogar in einer kältegeschädigten Kartoffelprobe der Sorte Tasso war Rishitin abwesend. Durch das Zerschneiden gesunder Kartoffeln scheint die Rishitinbildung nicht einzusetzen. In Desirée-Kartoffelscheiben, die nach dem Zerschneiden noch 4 Tage bei 4 Grad Celsius gelagert wurden, war Rishitin eben nachweisbar. Durch eine anschliessende

Abb. 1. Gaschromatogramme, Bedingungen siehe Text
A = Rishitinstandard; R = 10 ng; V = unbekannte Verunreinigung
B = Extrakt einer gesunden Kartoffel; M = interner Standard Methylarachidat
C = Extrakt einer mit Phytophthora infizierten Kartoffel. Der Rishitingehalt wurde zu 55 mg/kg berechnet

zweistündige UV-Bestrahlung mit einer UV-Analysenlampe (*Desaga Uvis,* Wellenlänge 254 nm), gefolgt von einer Ruheperiode von 48 Stunden bei Raumtemperatur im Dunkeln, resultierte eine Rishitinkonzentration von 5,0 mg/kg.

In mit dem Keimhemmungsmittel Chlorpropham (CIPC) behandelten gesunden Nicola-Kartoffeln konnte kein Rishitin nachgewiesen werden.

Die Untersuchung infizierter Kartoffeln ergab folgende Resultate: In den von Viren befallenen Kartoffeln (Y-Virus, Blattrollvirus) konnte kein Rishitin nachgewiesen werden.

In sämtlichen von dem Bakterium *Erwinia carotovora* infizierten Kartoffeln war Rishitin im Bereich von 6—123 mg/kg anzutreffen. Die elizitierende Wirkung

Tabelle 1. Vorkommen von Rishitin in gesunden und gestressten Kartoffelproben

Anzahl	Stressereignis	Sorte	Rishitin mg/kg
1	–	Bintje	nn
2	–	Desirée	nn
1	–	Ostara	nn
1	–	Sirtema	nn
1	–	Urgenta	nn
1	Kälte, 1 Woche 4 Grad	Desirée	nn
1	Kälteschaden	Tasso	nn
1	Schneiden, 3 Tage Raumtemperatur	Bintje	nn
1	Schneiden, Kälte 4 Tage 4 Grad	Desirée	0,3
1	Schneiden, Kälte 4 Tage 4 Grad UV 2 Stunden	Desirée	5,0
1	CIPC-Behandlung	Nicola	nn
1	Y-Virus	Nicola	nn
1	Y-Virus, Blattläuse	Eba	nn
1	Blattrollvirus, Blattläuse	Urgenta	nn
1	Blattrollvirus, Blattläuse	unbekannt	nn
1	Rhizoctonia, Silberschorf	Bintje	nn
1	Kälteschaden, Fusarium-Fäule	Ukama	nn
4	Phytophthora infestans	unbekannt div.	55/61 68/78
6	Erwinia carotovora	unbekannt div.	6/26 54/80 89/123

nn = kleiner als 0,2 mg/kg

von Erwinien wurde denn auch schon mehrfach in der Literatur beschrieben (13–15).

Bei den Pilzinfektionen konnte weder in einer mit Fusarien noch mit Rhizoctonia infizierten Probe Rishitin festgestellt werden. In sämtlichen, mit *Phytophthora infestans* infizierten Kartoffelproben war Rishitin im Bereich von 55–78 mg/kg nachweisbar. Auch dieser Befund steht im Einklang mit den Literaturdaten (16–19).

Zusammenfassend darf festgehalten werden, dass sämtliche Kartoffelproben, in denen Rishitin in beachtlichen Konzentrationen vorlag, leicht optisch als verdorben (braune bis schwarze Verfärbung) zu erkennen waren. Teilweise war die Verderbnis auch an dem üblen Geruch leicht zu erkennen. Unter den gegenwärtigen schweizerischen Versorgungsbedingungen scheint es ausserordentlich unwahrscheinlich, dass derart geschädigte Kartoffeln überhaupt in den Verkehr bzw. zum Verzehr gelangen.

Vorkommen von Rishitin in zu Futterzwecken hergestellten Kartoffelflocken

Wie im vorangehenden Kapitel festgestellt, dürften mit *Erwinia carotovora* bzw. *Phytophthora infestans* infizierte und somit Rishitin enthaltende Kartoffeln kaum direkt zur menschlichen Ernährung verwendet werden. Ob allenfalls solch qualitativ schlechtes Rohmaterial für die Herstellung von zu Futterzwecken dienenden Kartoffelflocken Verwendung findet, wurde durch die Analyse von 5 Futterkartoffelflocken angegangen. In 4 der analysierten Kartoffelflocken konnte kein Rishitin nachgewiesen werden. Die 5. Kartoffelflockenprobe, die bereits durch die gräulich-braune Farbe auffiel, konnte Rishitin mit 0,2 mg/kg eben nachgewiesen werden.

Die Analysen der 5 Futterkartoffelflocken ergab somit keinen Hinweis, dass durch die Verfütterung von Kartoffelflocken mit dem Auftreten von Rishitin in tierischen Lebensmitteln gerechnet werden muss.

Dank

Herrn Dr. *A. Kuchen*, Sektion Pestizide und Kunststoffe, danken wir herzlich für die massenspektroskopischen Arbeiten.

Die Überprüfung des Rishitingehaltes unseres Standards verdanken wir Herrn *E. Thalmann* vom Institut für Phytomedizin der ETH Zürich. Unser bester Dank gilt Herrn *Baltensperger* von der Eidg. Forschungsanstalt für landwirtschaftlichen Pflanzenbau, Zürich-Reckenholz, der uns die Muster der infizierten Kartoffeln zur Verfügung gestellt hat.

Für die Beschaffung der Futter-Kartoffelflocken sind wir Herrn Dr. *J. Morel* der Forschungsanstalt für viehwirtschaftliche Produktion in Grangeneuve zu Dank verpflichtet.

Zusammenfassung

In einer orientierenden Studie wurden gesunde und gestresste Kartoffeln auf das Vorhandensein von Rishitin gaschromatographisch untersucht. In keiner gesunden Kartoffelprobe war Rishitin nachweisbar (NG 0,2 mg/kg). In allen mit *Erwinia carotovora* bzw. *Phytophthora infestans* infizierten Kartoffelproben wurde Rishitin bis 120 mg/kg gefunden. Alle positiven Proben waren optisch leicht als verdorben zu erkennen. Somit scheint die Wahrscheinlichkeit des Konsums Rishitin enthaltender Kartoffeln eher unwahrscheinlich zu sein.

Résumé

Lors d'une étude informative, des pommes de terre saines et stressées ont été examinées par chromatographie en phase gazeuse à propos de la présence de rishitine. La rishitine n'a pas pu être décelée dans aucun des échantillons de pomme de terre (limite de décè-

lement: 0,2 mg/kg). Dans tous les échantillons de pommes de terre contaminées par *Erwinia carotovora* et *Phytophthora infestans*, on a trouvé de la rishitine jusqu'à 120 mg/kg. Tous les échantillons révélés positifs pouvaient aisément être reconnus visuellement par leur aspect abîmé. Par conséquent, il semble plutôt improbable de consommer des pommes de terre contenant de la rishitine.

Summary

In a preliminary study, the occurrence of rishitin in healthy as well as in physically or biologically stressed potatoes has been studied by a GLC method. The rishitin concentrations in healthy potatoes were always below 0.2 mg/kg (detection limit) whereas in all infected samples (*Erwinia carotovora, Phytophthora infestans*) measurable amounts have been detected, up to 120 mg/kg. These samples could also be identified as spoiled by optical inspection. It seems highly unlikely that such spoiled potatoes would be consumed, except for situations of utmost scarcity.

Literatur

1. *Kuć, J.:* Phytoalexins. Ann. Rev. Phytopathol. **10,** 207–232 (1972).
2. *Schlatter, J.* und *Lüthy, J.:* Vorkommen und Toxizität von Phytoalexinen in pflanzlichen Lebensmitteln. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **77,** 404–419 (1986).
3. *Smith, D. A.:* Toxicity of phytoalexins. In: Bailey, J. A. and Mansfield, J. W. (Eds.), Phytoalexins, pp. 218–252. Blackie, Glasgow and London 1982.
4. *Kuć, J.:* Phytoalexins from the solanaceae. In: Bailey, J. A. and Mansfield, J. W. (Eds.), Phytoalexins, pp. 81–105. Blackie, Glasgow and London 1982.
5. *Renwick, J. H.:* Hypothesis anencephaly and spina bifida are usually preventable by avoidance of a specific but unidentified substance present in certain potato tubers. Brit. J. Prev. Soc. Med. **26,** 67–88 (1972).
6. *Haard, N. F.:* Stress metabolites. Postharvest Physiol. and Crops Preserv. **46,** 299–314 (1983).
7. *Tjamos, E. C.* and *Kuć, J. A.:* Inhibition of steroid glycoalkaloid accumulation by arachidonic and eicosapentaenoic acids in potato. Science **217,** 542–544 (1982).
8. *Bostock, R. M., Nuckles, E., Henfling, J. W. D. M.* and *Kuć, J. A.:* Effects of potato tuber age and storage on sesquiterpenoid stress metabolite accumulation, steroid glycoalkaloid accumulation, and response to abscisic and arachidonic acids. Phytopathology **73,** 435–438 (1983).
9. *Bloch, C. B., De Wit, P. J. G. M.* and *Kuć, J.:* Elicitation of phytoalexins by arachidonic and eicosapentaenoic acids: a host survey. Physiol. Plant Pathol. **25,** 199–208 (1984).
10. *Henfling, J. W. D. M.* and *Kuć, J.:* A semi-micro method for the quantitation of sesquiterpenoid stress metabolites in potato tuber tissue. Phytopathology **69** (6), 609–612 (1979).
11. *Cheema, A. S.* and *Haard, N. F.:* Induction of rishitin and lubimin in potato tuber discs by non-specific elicitors and the influence of storage conditions. Physiol. Plant Pathol. **13,** 233–240 (1978).
12. *Scanlon, J. T.* and *Willis, D. E.:* Calculation of flame ionization detector relative response factors using the effective carbon number concept. J. Chromatogr. Sci. **23,** 333–340 (1985).

13. *Lyon, G. D.* and *Bayliss, C. E.:* The effect of rishitin on Erwinia carotovora var. atroseptica and other bacteria. Physiol. Plant Pathol. **6**, 117–186 (1975).
14. *Lyon, G. D.:* Comparisons between phytoalexin concentrations and the extent of rotting of potato tubers inoculated with Erwinia carotovora sub sp. atroseptica, E. carotovora sub sp. carotovora or E. chrysanthemi. Phytopath. Z. **111**, 236–243 (1984).
15. *Lyon, G. D.:* Occurrence of rishitin and phytuberin in potato tubers inoculated with Erwinia carotovora var. atroseptica. Physiol. Plant Pathol. **2**, 411–416 (1972).
16. *Price, K. R., Howard, B.* and *Coxon, D. T.:* Stress metabolite production in potato tubers infected by Phytophthora infestans, Fusarium avenaceum and Phoma exigua. Physiol. Plant Pathol. **9**, 189–197 (1976).
17. *Horikawa, T., Tomiyama, K.* and *Doke, N.:* Accumulation and transformation of rishitin and lubimin in potato tuber tissue infected by an incompatible race of phytophthora infestans. Phytopathology **66**, 1186–1191 (1976).
18. *Stolle, K.* und *Schöber, B.:* Wirkung eines Toxins von Phytophthora infestans (Mont.) de Bary auf Kartoffelknollengewebe. Potato Research **27**, 173–184 (1984).
19. *Brindle, Ph. A., Kuhn, P. J.* and *Threlfall, D. R.:* Accumulation of phytoalexins in potato-cell suspension cultures. Phytochemistry **22**, 2719–2721 (1983).

Dr. R. Dick
Dr. U. Baumann
Dr. B. Zimmerli
Bundesamt für Gesundheitswesen
Abteilung Lebensmittelkontrolle
Sektion Lebensmittel- und Radiochemie
Postfach 2644
CH-3001 Bern