

Dipl.-Ing. Helmut REINER
Pflanze - Lebensmittel - Qualität



Grünentorg. 19 / 12
A 1090 Wien

Dipl.-Ing. für Lebensmittel- und Biotechnologie
tel + fax 0043 / 1 / 310 59 62, eMail: helmut.reiner@teleweb.at

Suche nach Labors zur Untersuchung des Gehaltes von Gossypol in Baumwollsaat und Baumwollsaatschroten

Nachdruck der Recherche

Stand: 7.12.2004
(nachgedruckt am 20.3.2014)

Einleitung

Auf der Suche nach gentechnik-freien Baumwollsaat-Produkten für den Einsatz in Backwaren kommen neue Lieferanten ins Spiel. Die angebotenen Produkte müssen gründlich untersucht werden. Bei **Baumwollsaat** und **Baumwollsaat-produkten** spielt vor allem der natürlich vorkommende und giftige Inhaltsstoff **Gossypol** eine große Rolle. Zunächst werden die wichtigsten Grundlagen über Baumwollsaat und das Gossypol zusammengestellt (vor allem aus der Arbeit von Reiner 2004). Die **Labors**, die die Untersuchung des Gossypol-Gehaltes durchführen könnten, sind aufgelistet.

Die in dieser Ausarbeitung zusammengestellten Grundlagen sind nicht von wissenschaftlichem Interesse, sondern notwendig für eine Qualitätscharakterisierung der Waren aus Baumwollsaat !

Die Baumwollsaat

Baumwollsaat enthält den für die Ernährung ungünstigen, antinutritiven Stoff Gossypol, der in Drüsen in der ganzen Pflanze und auch im Samen vorkommt. Im Samen kann bis zu 10 % Gossypol enthalten sein. Ein hoher Gehalt an Gossypol kann mit Insektenresistenz von Baumwollsorten korrelieren. Gossypol konnte schon im 19. Jh. als gelber Farbstoff aus dem Baumwollsaatöl herausgereinigt werden.

Die maschinell geerntete Baumwolle wird gereinigt. Danach werden in Baumwollentlinterungsanlagen (Cotton Gins) bzw. Entkernungsanlagen mit Sägeblättern und Bürsten die Haare der Baumwolle (lint) von den Samenkernen abgerissen. In den USA gibt es etwa 1000 solcher Cotton Gins. Der Lint wird nochmals gereinigt und dann zu Ballen gepresst, die als Handelsware verkauft werden.

Die Firmen lagern ihre Baumwollsaat und können sie direkt an Rindermäster (Wiederkäuer) verkaufen. Ein Großteil der Saat wird aber an Ölmühlen verkauft und weiter verarbeitet. In den USA gibt es derzeit 44 solcher Ölmühlen. Der erste Schritt ist das Schälen (hulling) der Baumwollsaat, wobei die Schalen abgesichtet werden, mit Gewichtsauslesern werden eventuell noch ungeschälte Samen ausgelesen und noch einmal dem Schäler zugeführt. Die geschälte Saat wird zunächst flockiert (flaking) und erhitzt und dann ausgepresst und in einem Expander für die Extraktion vorbereitet. Bei der Expansion bilden sich Poren, sodass bei der Extraktion das Hexan besser eindringen kann und das restliche Öl heraus extrahiert. Das Hexan wird danach aus dem Ölsaft ausgetrieben. (Gehalt an Rest-Hexan ist auch ein Qualitätskriterium !)

Die Hauptprodukte dieser Verarbeitung sind:

- Baumwoll Schalen
- Baumwollsaat-Rohöl
- Baumwollsaat- Extraktionsschrot mit 41 % Protein

Das Flockieren bewirkt ein Aufplatzen der Drüsen und Austreten des Gossypols bzw. bei Anwendung feuchter Hitze eine Reaktion mit dem Eiweiß in der Baumwollsaat und damit eine Inaktivierung. Tritt Gossypol ins Öl über, so zeigt dieses eine dunkle, rötliche Verfärbung. Schrot mit niederem Gossypolgehalt wird in Handelsregeln (NCPA trading rules) definiert mit weniger als 0,04 % Gossypol (AOAC Official Method Ba 7-58) (Gregory S.R. et al 1999, S 793)

Nach der Ernte haften am Baumwollsaamen noch Lint und Linters (Wolle mit kürzeren Haaren), sodass sich gewichtsmäßig folgende Prozentsätze ergeben:

- 40 % Samen
- 33 % Lint (Baumwolle)
- 27 % Linters (Watte mit kurzen Haaren)

Der Samen selbst besteht zu 31 % aus Samenschale. Die folgende Gegenüberstellung zeigt die Inhaltsstoffe von ungeschälter und geschälter Baumwollsaat: (aus: Bockisch 1993, S 186)

	ungeschält	geschält
Rohprotein	23	39
Rohfett	23	33
Rohfaser	17	3
Asche	4	5
N-freier Extrakt	26	15
Wasser	8	7

Bei Oosterhuis und Jernstedt (S 178) findet sich der genaue Aufbau der Samen und eine Abbildung dazu. Der Samen hat eine ovale Form und eine dunkle Oberfläche. Er besteht aus der Samenschale (Testa), die bei der Schälung entfernt wird. Im Inneren findet sich der Embryo mit 2 gut entwickelten zusammengefalteten Keimblättern (Kotyledonen) und kleinen Resten des Endosperms (Nährgewebe für den Keimling), außerdem das Hypocotyl und die Wurzelanlage. Der Hauptreservestoff der Baumwollsaat ist das Fett, das sich vor allem in der Anlage der Keimblätter befindet. Auch im Samen sind dunkle Flecken zu erkennen - dies sind die Gossypol-Drüsen.

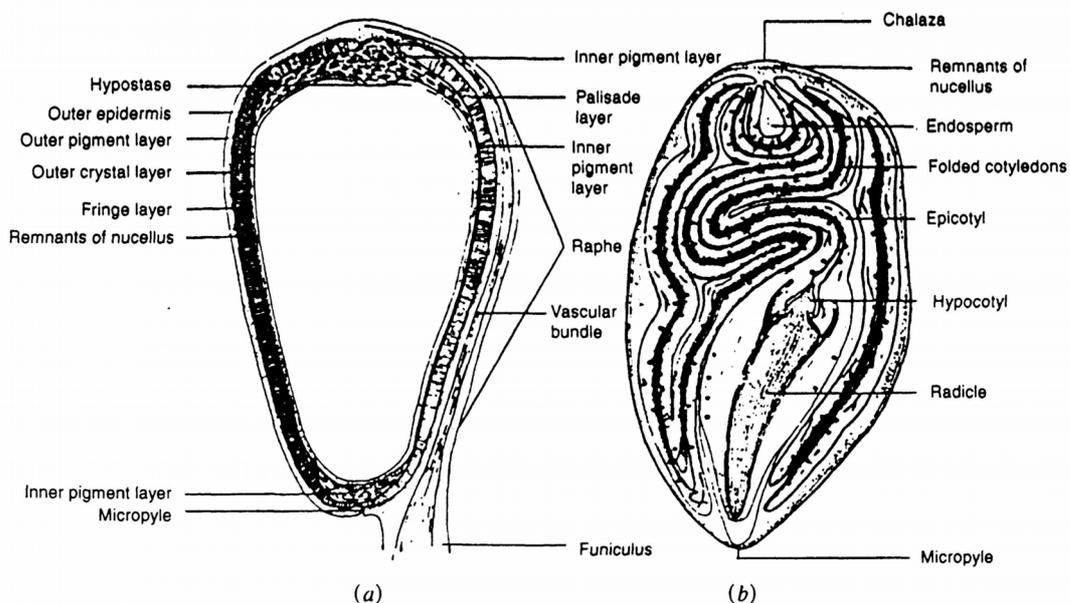


Figure 2.1.2. Structure of a mature cottonseed in longitudinal section. (a) Details of the seed coat. (b) Kernel showing internal structures. [Redrawn from Tharp (1965).]

Im Warenhandel unterscheidet man weiße und schwarze Baumwollsaat. An den weißen Samen haften noch Wollfasern, an den schwarzen nicht, da sie mit Säure behandelt wurden (acid delinted cottonseed). Baumwollsaat kann direkt an Wiederkäuer verfüttert werden. Der Prozentsatz an Baumwolle, die direkt verfüttert wird ist in den USA zwischen 1979 und 1996 von 13 % auf 45 % gestiegen. Für Nicht-Wiederkäuer, wie Schweine und Hühner, ist unverarbeitete Baumwollsaat wegen des Gehaltes an freiem Gossypol allerdings nicht geeignet.

Wichtig: In den USA gibt es heute sogenannte "glandless" cultivars, d.h. Sorten ohne Gossypol-Drüsen (gland = Drüse). Die Warenkunde verwendet daher die Begriffe "glandless cottonseed flour or glandless partially defatted cottonseed flour". Man müsste noch abklären, ob in der Türkei auch Sorten angebaut werden, die keine Gossypolrüsen haben ! (mit dem Suchwort "glandless cottonseed flour" bekommt man im Google mit Sprachtools engl. und USA zahlreiche Treffer !)

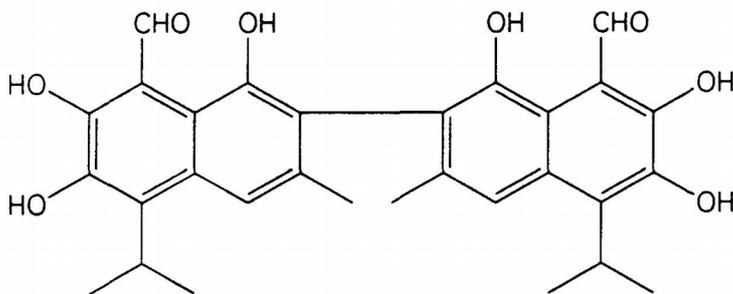
Baumwollsaat Expeller und Schrot

entsteht als Nebenprodukt bei der Herstellung des Baumwollsaatöles und ist ein sehr einweißreicher Extraktionsschrot. Er wird vor allem als wertvolles Tierfutter eingesetzt.

Im Handel finden sich zahlreiche Produkte, wie Baumwollsaat-Expeller, Baumwollsaat Extraktionsschrot und Baumwollsaat Pellets, deren warenkundliche Daten alle auf der Seite des Verbandes der Deutschen Versicherungswirtschaft näher spezifiziert sind. (<http://www.tis-gdv.de>)

Der Einfuhr von Baumwollsaatprodukten aus den Vereinigten Staaten ist je nach Marktlage großen Schwankungen unterworfen. So wurde nach einer Statistik immer wieder Baumwollsaat-Schrot von den USA nach Europa exportiert. Im Wirtschaftsjahr 1999/2000 z.B. 6612 Tonnen nach Österreich und 2284 Tonnen nach Deutschland. Nach Angabe großer Futtermittelhersteller in Österreich wird zumindest derzeit kein Baumwollsaat-Schrot verwendet. Baumwollsaat sei auch für das praktische Handling in Futtermittelwerken eher schwierig wegen des geringen spezifischen Gewichtes.

Chemie von Gossypol



Die Formel von Gossypol:

- Das Molekül ist symmetrisch aufgebaut aus zwei Naphtalen-Ringsystemen, es ist ein Polyphenol.
- Diese Bindung zwischen den 2 Ringsystemen ist frei drehbar, sodass es 2 Enantiomere ergibt (räumliche Anordnungen des Moleküles), die dazu führen, dass das Molekül optisch aktiv ist.
- Es ist entstanden aus 6 Isopren-Einheiten ($6 \times 5 = 30$ C Atome), ist also ein Terpen (häufig im englischen: a terpenoid aldehyd)
- Jeder Naphtalenring trägt drei Alkoholgruppen (-OH) und je eine Isopropyl-Gruppe. ($\text{CH}_3 \text{CH} \text{CH}_3$)
- Die funktionellen Gruppen sind die beiden Aldehyd-Gruppen (-CHO), die mit Eiweiss bzw. mit den farbbildenden Reagenzien (Anilin) reagieren.

Summenformel: $\text{C}_{30} \text{H}_{30}\text{O}_8$ - Molekulargew.: 518, 54 g/mol - Schmelzpkt: 184 °C

Analytik

Beim Aufreissen der Gossypoldrüsen reagieren die Aldehydruppen sofort mit dem Eiweiss der Baumwollsaat und das Gossypol bindet sich an Eiweiss. Dieses Gossypol ist direkt nicht mehr nachweisbar und wird **Gebundenes Gossypol** genannt. Es hat auch keine Giftwirkung mehr.

Gossypol, bei dem die Aldehydruppen noch frei sind, kann in Tieren bzw im Menschen seine Giftwirkung entfalten, weil die Aldehydruppen dann mit dem Eiweiss im Körper des Tieres bzw. in der menschlichen Verdauung reagieren. Man spricht von **Freiem Gossypol**. Dieses ist giftig.

Für die Qualitätskontrolle ist also das freie Gossypol wichtig !

Gossypol wird extrahiert mit einem Aceton-Wasser Gemisch (70:30) und dann meist mit einem Aromatischen Amin umgesetzt. Es entsteht eine Farbe, die im Spektralphotometer gemessen werden kann. Das einfach

herauslösbare Gossypol wird **Freies Gossypol** genannt. Das **Gesamt Gossypol** erhält man, wenn die Probe vorher mit Säure hydrolysiert wird. (genauer bei Berardi, Goldblatt S 205)

Die beiden von Hrn Dr. Nader aus Hamburg genannten Methoden:

1. AOCS Ca 13-16 (American Oil Chemists Society)
2. VDLUFA Methodenbuch III, 16.5.1 (Amtliche Methoden für Futtermittel) beruhen auf diesen Prinzipien.

Gehalte

Im Folgenden sollen einige Zahlen aus verschiedenen Werken und aktuellen Websites zitiert werden, um einen Überblick über die Größenordnungen zu bekommen. Es muss immer angegeben werden, ob es sich um Gebundenes, Freies oder Gesamt Gossypol handelt.

Gebundenes Gossypol + Freies Gossypol = Gesamt Gossypol

0,1% = 1 mg/ 1000 mg = 1000 ppm = 1000 mg /kg
mg / kg = ppm

10 % maximale **Gesamt** Gossypolgehalte in sehr gossypolreichen Baumwollsorten

1% sehr hohes **Gesamt** Gossypol in Baumwollsaatgexpellern

0,2 % hohe Werte von **Freiem** Gossypol in Baumwollsaatexpellern

0,06 % (0,06 % = 600 mg/kg oder ppm)
= **600 mg/kg** für **Freies** Gossypol auf einer Konferenz der WHO/FAO 1964 festgelegter Grenzwert für Lebensmittel.

100 mg/kg oder ppm: Grenzwert an **Freiem** Gossypol für empfindliche Tiere, wie Ferkel und Kälber; die Grenzwerte für die verschiedenen Tiere liegen nach Empfindlichkeit zwischen 20 und 500 mg/kg oder ppm

20 mg/kg oder ppm ist die Bestimmungsgrenze der VDLUFA-Methode, für **Freies** und **Gesamtes** Gossypol. Darunter wird der Gehalt als 0 = nicht nachweisbar (mit dieser Methode) angegeben.

Quellen:

Von der FAO/WHO wurde im Jahre 1964 Grenzwerte für Gossypol für die menschliche Ernährung angegeben. Die Spezifikationen dieser Richtlinien sahen ein Maximum für freies Gossypol von 0,06 % und für Gesamt-Gossypol von 1,2 % vor (**Berardi, Goldblatt 1980, Seite 220**)

Unklar ob dieser Grenzwert für menschliche Ernährung noch aufrecht ist !

Jeroch H., Flachowski G., Weißbach F. (1993), Seite 315:

"Baumwollsaatexpeller enthalten 0,5 bis 0,9 % Gesamtgossypol, in freier Form bis zu 0,2 %. In Baumwollsaatextraktionsschroten wurde bis zu 0,12 % freies Gossypol nachgewiesen. Das ist der im Futtermittelgesetz angegebene Höchstanteil."

Korrespondenz mit **Hrn Dr. Nader (derzeit gültig)**

" Gossypol scheint in Deutschland nur bei Futtermitteln mit einem Grenzwert versehen zu sein. Der ist in der Futtermittel VO festgelegt und liegt für Baumwollsaatkuchen bei 2,5 g / kg, für Mischfutter je nach Tierart zwischen 20 und 500 mg /kg. Besonders empfindlich ist das Schwein.

Freies Gossypol mit über >100 mg/kg (100 ppm) im Futter von Schweinen oder weniger als 4 Monate alten Wiederkäuern könnte zu Gossypolvergiftung bei diesen Tieren führen. (**MerckVetManual 2004**)

In einer wissenschaftlichen Arbeit konnte gezeigt werden, dass man mit Auszählen der Gossypol-Flecken mit freiem Auge auf dem Querschnitt des Samens schon einen Anhaltspunkt über den Gehalt an Gossypol bekommt. Die Anzahl der Punkte korreliert mit dem Gossypolgehalt (Artikel von **H. Benbouza et al 2002**), siehe auch eine Abbildung von Glandless Cottonseed **Botgard (2004)**

Wichtig !!!

Welche Gossypolgehalte in Baumwollsaat, die für die menschliche Ernährung bestimmt ist, letztlich akzeptiert werden können, müsste noch eingehend recherchiert werden. Ich konnte noch keine aktuell gültigen Grenzwerte finden. Grenzwerte aus der Tierernährung können natürlich nicht herangezogen werden. Es gibt nur wenige Arbeiten über den Einsatz von Baumwollsaatprodukten in Lebensmitteln. Die Labors in Hamburg und Rotterdam können hier sicher Aussagen treffen, falls die Werte als gefährlich hoch eingestuft werden.

Labors

Ich konnte 3 Labors finden, die Gossypol selbst untersuchen.

Auszüge aus Antwortmails:

1. von werner.nader@wej.de am 3.Dez 2004

Sehr geehrter Herr DI Reiner:

Vielen herzlichen Dank für die Anfrage. Wir bestimmen Gossypol nach zwei Methoden:

1. AOCS Ca 13-16
2. VDLUFA Methodenbuch III, 16.5.1

Dabei wird zwischen freiem und Gesamtgossypol unterschieden. Die Analyse kostet 103 €. Die Bearbeitungszeit beträgt zwischen 5 und 10 Werktagen.

Mit freundlichen Grüßen
Dr. Werner Nader

von werner.nader@wej.de am 6.Dez 2004

Sehr geehrter Herr DI Reiner:

Ich habe hausintern recherchiert:

1. Gossypol scheint in Deutschland nur bei Futtermitteln mit einem Grenzwert versehen zu sein. Der ist in der Futtermittel VO festgelegt und liegt für Baumwollsaatkuchen bei 2,5 g / kg, für Mischfutter je nach Tierart zwischen 20 und 500 mg /kg. Besonders empfindlich ist das Schwein.

Zu Gossypol in Lebensmitteln habe ich nur gefunden, dass Baumwollsaat nicht für die menschliche Ernährung geeignet sei.

2. Wir analysieren Gossypol nach der VDLUFA Methode, und zwar freies und gesamtes. Bestimmungsgrenze ist 20 mg /kg. Wir benötigen pro Analyse ein Muster von etwa 100 g.

3. Zum Nachweis von GV-Baumwolle reicht die PCR auf 35S aus. Preis pro Probe: 130 €.

Anbei schicke ich Ihnen unsere Preisliste für Futtermittel. Die Preise dort sind auch für Lebensmittel gültig.

mit freundlichen Grüßen
Dr. Werner Nader

Eurofins Wiertz-Eggert-Jörissen GmbH
Stenzelring 14b
21107 Hamburg
Tel: +49 40 30086 290
Cel: +49 173 2060004
Fax: +49 40 752709-35
<http://www.wej.de> und <http://www.eurofins.com>

Anmerkung: Dieses Labor dürfte nach meinen Auskünften große Erfahrung mit der Analyse von Gossypol haben. Wichtig ist auch nochmal der Hinweis von Hr. Dr. Nader, dass unverarbeitete Baumwollsaat selbst für die menschliche Ernährung nicht geeignet ist !

**von Dr. Markus Howald <markushowald@eurofins.com>
(Eurofins Scientific AG) am 3. Dez 2004**

Sehr geehrter Herr Reiner

Wir bieten diese Analysen (Gehalt an freiem Gossypol) an, und zwar zu einem Preis von 82.-- Euro pro Probe in Futtermittel. Diese Methode lässt sich auch auf Saatgut anwenden.

Mfg
Dr. Markus Howald
Eurofins Scientific AG
Parkstrasse 10
CH-5012 Schönenwerd SWITZERLAND
Phone: +41 62 858 71 95
Fax: +41 62 858 71 09
Website: www.eurofins.ch

Dieser Ort liegt bei Solothurn nördlich von Bern. Es gibt eine Probeannahmestelle in Zürich und Basel. Dieses Labor schickt aber die Proben scheinbar an ein anderes Labor weiter. Es gibt noch Eurofins Labors bei Paris und eines in England, das Gossypol untersucht.

**von Frau Jennifer Wolff <info@drverwey.nl>
vom Labor Dr Verwey in Rotterdam 7. Dez 2004**

Dear mr. Reiner,

- The analysis costs are 150,50 euro per sample with 14,50 euro administration costs per certificate.
- The analysis takes about 1 working day.
- We need about 250 gr per sample per analysis.

Regards,

Lab.administration,
Jennifer Wolff

Tel: +31 (0)10 476 10 55

Email: [Coolhaven 32](mailto:info@drverwey.nl)

[3024 AC Rotterdam](#)

[The Netherlands](#)

[P.O. Box 6003](#)

[3002 AA Rotterdam](#)

[Tel: +31 \(0\)10 476 10 55](tel:+31(0)104761055)

[Email: info@drverwey.nl](mailto:info@drverwey.nl)

<http://www.drverwey.nl/>

Anmerkung:

Dieses Labor ist eines der größten Warenkundelabors für den Hafen von Rotterdam (sicherlich auch ein Umschlagplatz für Baumwollsaat bzw. Baumwollsaatschrot) Man kann hier sicher große Kompetenz erwarten, zumal der klassische Importweg der Baumwollsaat aus den USA über Rotterdam läuft

**3. von Herrn Christoph Hermann Chemolab
<chemolab@bluewin.ch>**

Sehr geehrter Herr Reiner

Wie telefonisch schon angesprochen, würden wir eine HPLC-Methode zur Gossypol-Bestimmung in Baumwollsaat vorschlagen. Bei dieser Methode, die bereits entwickelt ist und sich in der Zeitschrift „Crop Science 42, 1937-1942 (2002)“ findet, wird eine von der Schale befreite und gemahlene Untersuchungsprobe 10 min lang in konzentrierter Essigsäure bei 100°C hydrolisiert. Nach Filtrieren wird das Filtrat anschliessend mittels HPLC unter UV-Detektion (bei 272 nm) analysiert. Durch vorherige Erstellung einer Kalibriergeraden (Referenzsubstanz erhältlich bei Sigma) erfolgt die quantitative Bestimmung von Gossypol in der Untersuchungsprobe.

Wir würden eine Bearbeitungszeit von 1 - 2 Wochen als realistisch ansehen, da wir Gossypol erst bei Sigma bestellen müssten. Für die Preiskalkulation würden wir uns erlauben, ungefähr einen knappen Arbeitstag zu berechnen, also etwa SFr 600. Bei mehr als einer Probe würde sich der Preis pro Probe natürlich verringern (um ca. 25-30%).

Ich hoffe, Ihnen damit die gewünschten Informationen gegeben zu haben, und wir würden uns sehr freuen, wenn unser Angebot auf Ihr Interesse stossen würde. Bei eventuellen Rückfragen stehen wir Ihnen gerne zur Verfügung.

Mit freundlichen Grüssen
Christoph Hermann

Chemolab AG
Hauserstrasse 53
CH-5210 Windisch, Tel. 0041 56 - 441 77 88, Fax 0041 56 - 442 41 21
E-Mail: chemolab@bluewin.ch

Anmerkung:

Dieses Labor könnte die Methodik ebenfalls aufbauen. Der Preis ist für den Aufbau der Methoden zunächst höher, könnte aber dann gesenkt werden, wenn laufend Proben dort untersucht werden ! Es ist zu bedenken, dass hier eine HPLC Methode angewendet wird, die Gossypol und alle weiteren Derivate erfasst und auch sehr empfindlich ist. Es wäre ein relativ naher ständiger Ansprechpartner für das Problem. Windisch liegt im Aargau bei Baden zwischen Zürich und Basel. Herr Dr. Hermann hat Chemie in Konstanz studiert.

Literatur

Folgende Arbeiten kann ich bei näherem Interesse zur Verfügung stellen:

Benbouza H. et al 2002: Development of a Visual Method to Quantify the Gossypol Content in Cotton Seeds. - Crop Science 42:1937-1942 (2002)
<http://crop.scijournals.org/cgi/content/full/42/6/1937>

Berardi Leah C., Goldblatt Leo A.: Gossypol, Seiten 183-237 - IN: Liener Irvin E.: Toxic Constituents of Plant Foodstuffs. - Academic Press 1980

Bockisch M.: Nahrungsfette und Öle. - Eugen Ulmer Verlag Stuttgart 1993

Botgard:

<http://www.botgard.ucla.edu/html/botanytextbooks/economicbotany/Gossypium/b0783tx.html>

Gregory S.R., Hernandez E., Savoy B.R.: Cottonseed Processing. - IN: Smith, Cothren 1999

Jaroszewski J.W.: Gossypol - A Unique Biologically Active Compound from the Cotton Plant. - IN: Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol 42 Cotton (ed by Y.P.S. Bajaj), Springer 1998

Jeroch H., Flachowski G., Weißbach F.: Futtermittelkunde. - Gustav Fischer Jena Stuttgart 1993

MerckVetManual: <http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp?cfile=htm/bc/211200.htm>

Reiner H.: Agrarökologie von Reis und Baumwolle, Kurzstudie, Grundlagen zur Beurteilung der Grünen Gentechnik. Forschungsberichte der Sektion IV, Bd. 6 /2004 des Bundesministeriums für Gesundheit und Frauen, Wien (diese Studie ist gratis zu bestellen unter tel 0043 1 71100 4700)

Smith C. Wayne, Cothren J. Tom (hrsg.): Cotton History Technology and Production, John Wiley Verlag New York 1999