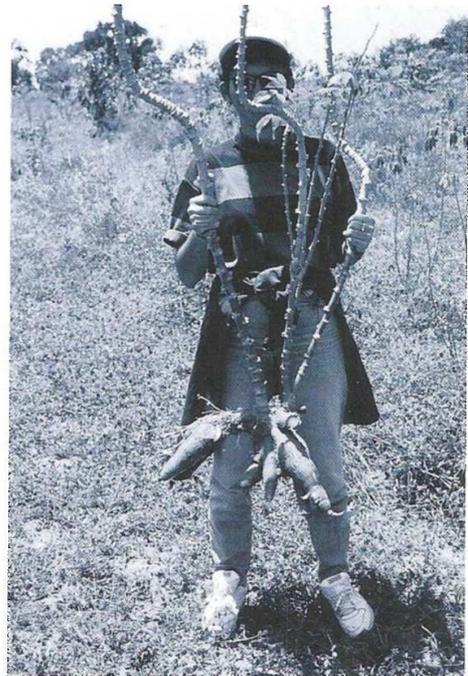


BLAUSÄURE IN NAHRUNGS- PFLANZEN – EINE GEFAHR FÜR LEBENSMITTEL?

VON DIRK SELMAR

Botanisches Institut und Botanischer Garten
der Technischen Universität Braunschweig

Blausäure ist in fast allen pflanzlichen Lebensmitteln enthalten – meist allerdings in so geringen Mengen, daß sie für Menschen nicht gefährlich ist. In besorgniserregend hoher Konzentration ist Blausäure jedoch unter anderem in Maniok enthalten, einem Grundnahrungsmittel für über 400 Millionen Menschen in der »Dritten Welt«: Bereits der Verzehr von 200 bis 500 Gramm frischer Knollen wäre tödlich. Mit Hilfe der Gentechnik Maniokpflanzen zu produzieren, deren Knollen keine oder wenig Blausäure enthalten, ist das Ziel eines Forschungsprojektes an der TU Braunschweig.



Die zentralen Stoffwechselprozesse – wie zum Beispiel die Energiebereitstellung, die Weitergabe von Erbinformationen oder die Synthese von Kohlenhydraten, Fetten und Proteinen – sind in allen lebenden Organismen prinzipiell gleich oder zumindest sehr ähnlich.

PFLANZLICHE SEKUNDÄRSTOFFE

Neben diesem Grund- oder Primärstoffwechsel finden sich vor allem in höheren Pflanzen zusätzlich noch sehr viele Stoffwechselprozesse, die jeweils nur in ganz bestimmten Pflanzenarten vorkommen und in deren Folge meist sehr spezifische Naturstoffe synthetisiert und in den Zellen akkumuliert werden. Da diese Substanzen nicht zur Aufrechterhaltung des Primärstoffwechsels erforderlich sind, werden sie häufig als »Sekundäre Pflanzenstoffe« bezeichnet und den Primärstoffen gegenübergestellt.

Bis heute sind über 10.000 unterschiedliche Sekundärstoffe aus Pflanzen isoliert und charakterisiert worden. Die Terpenoide und die phenolischen Substanzen stellen die größte Gruppe bei den stickstofffreien Verbindungen, bei den stickstoffhaltigen Substanzen sind es die Alkaloide. Wenn gleich diese Substanzen keine essentiellen Funktionen für den Primärstoffwechsel aufweisen, so kommt ihnen doch eine große Bedeutung für die Pflanzen zu, denn sie bilden die Basis für die vielfältigen Wechselbeziehungen mit anderen Organismen. Jedem ist sicherlich bekannt, daß Insekten oder andere Blütenbestäuber durch be-

Oben:
Maniokpflanze mit den typischen
blausäurehaltigen Wurzelknollen
(*Manihot esculenta*).

stimmte Farbsignale der Blütenblätter angelockt werden. Diese Blütenfarben werden durch ebensolche Sekundärstoffe, etwa die Anthocyane und Flavonoide, hervorgerufen. Auch vielen Duftstoffen, beispielsweise aus der Gruppe der Terpene, kommt eine derartige *attractance*-Wirkung zu. Andere Naturstoffe wirken genau entgegengesetzt, so daß potentielle Fraßfeinde abgeschreckt werden und dadurch die Pflanzen wirksam vor dem »Gefressenwerden« geschützt sind. Den Sekundärstoffen kommt aber nicht nur aufgrund derartigen *repellent*-Wirkungen eine Schutzfunktion gegenüber Herbivoren (»Fraßfeinden«) zu, sondern diese Substanzen können auch wegen ihrer Toxizität (Giftigkeit) die Pflanze vor Infektionen durch Pilze oder bakterielle Schaderreger schützen. Aufgrund dieser wichtigen ökologischen Funktionen der Sekundären Pflanzenstoffe sind sie für das Überleben der Art im Ökosystem unabdingbar, sei es zum Schutz vor Fraßfeinden und Pathogenen (Krankheitserregern) oder zur Anlockung von Blütenbestäubern.

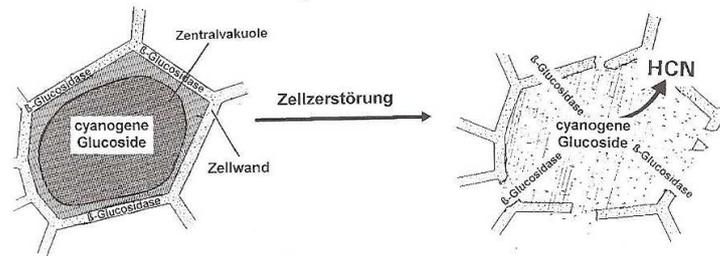
DIE PFLANZLICHE BLAUSÄURE-FREISETZUNG

Typische Sekundärstoffe sind unter anderem Alkaloide, Terpene, Phenole, Senföle und auch die bekanntlich sehr giftige Blausäure. Für Nicht-Biologen ist es sicherlich überraschend, daß sehr viele Pflanzen in der Lage sind, Blausäure (= HCN) zu produzieren; allerdings findet eine solche Blausäurefreisetzung oder Cyanogenese erst dann statt, wenn die entsprechende Pflanze, etwa durch Fraß, verletzt wird. Da die Salze der Blausäure »Cyanide« genannt werden, werden Substanzen, die mit HCN in Beziehung stehen, mit der Vorsilbe »cyan« oder »cyano« belegt.

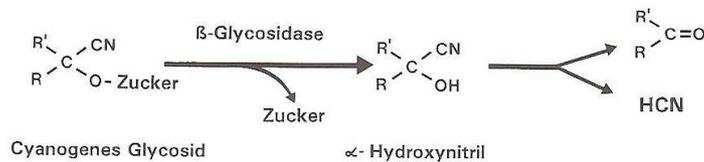
Bislang ist bekannt, daß in über 3.000 Pflanzenarten sogenannte cyanogene Glucoside gespeichert werden. Die ökologischen Funktionen dieser Substanzen sind noch nicht vollständig aufgeklärt, doch kann davon ausgegangen werden, daß ihnen aufgrund des bitteren Geschmacks und der Giftigkeit der aus ihnen entstehenden Blausäure eine Schutzfunktion zukommt.

Die cyanogenen Glucoside bestehen prinzipiell aus zwei Komponenten, einem sehr instabilen Hydroxynitril, das durch ein Zuckermolekül, meist Glucose, stabilisiert

ABBILDUNG 1
Blausäurefreisetzung nach Zellzerstörung.



FORMEL 1
Pflanzliche Cyanogenese (Blausäurefreisetzung aus cyanogenen Glucosiden).



wird (Formel 1). Diese Stabilisierung erlaubt, daß die Substanzen in den Zentralvakuolen der Zellen gespeichert werden können, ohne zu zerfallen. Erst wenn die Glucoside mit entsprechenden lytischen Enzymen in Kontakt kommen, werden sie gespalten. Da diese Enzyme außerhalb der pflanzlichen Zelle lokalisiert sind, kommen sie nur im Fall einer Zellzerstörung mit den cyanogenen Glucosiden in Berührung. Im

Zuge der einsetzenden Hydrolyse (Spaltung) entstehen zunächst die instabilen Hydroxynitrile, die dann weiter zerfallen und dabei Blausäure freisetzen (Abb. 1). In übertragenem Sinne kann durchaus von einer »Blausäure-Bombe« gesprochen werden, die explodiert, sobald die Pflanzenzelle, zum Beispiel durch die Fraßfeinde, zerstört wird.

BLAUSÄURE IN NAHRUNGSMITTELN

Substanzen, die in lebenden Pflanzen vorhanden sind, finden sich in der Regel auch in den Lebensmitteln, die aus ihnen produziert werden. Dies gilt natürlich ebenso für cyanogene Glucoside und deren Abbauprodukte, also auch für die Blausäure. Da fast alle Nahrungspflanzen cyanogene Glucoside enthalten, gibt es kaum ein Lebensmittel, in dem sich nicht diese Substanzen – beziehungsweise die daraus freigesetzte Blausäure – finden. Allerdings sind die Konzentrationen der cyanogenen Glucoside und der Blausäure in den meisten Nahrungspflanzen und damit auch in den aus ihnen produzierten Nahrungsmitteln sehr gering (Tab. 1).

Da die Menschen, wie alle Säugetiere, ein gut funktionierendes Entgiftungssystem für

TABELLE 1
Blausäuregehalte verschiedener Lebensmittel.

Produkt	Blausäuregehalt [µg/kg]
Haferflocken	16
Weizenmehl, Type 405	24
Grünkernmehl	470
Corn-flakes	8
Weißbrot	11
Erbsen	1-50
Tomaten	16
Bier	3-160
Apfelsaft	60
Orangennektar	20
Kirschsafte	500

Blausäure besitzen, ist die letale (tödliche) Dosis relativ hoch: Sie beträgt für einen Erwachsenen etwa 50 Milligramm (mg) freier Blausäure pro Tag. Die kleinen Mengen HCN, die sich in der überwiegenden Zahl der Nahrungsmittel finden, stellen für uns überhaupt kein toxikologisches Problem dar. In der Leber eines Erwachsenen können durch die Aktivität der Rhodanase, eines Enzyms, das Blausäure zum relativ ungiftigen Rhodanid umbaut, problemlos pro Tag 20 mg bis 30 mg Blausäure entgiftet werden. Das produzierte Rhodanid wird anschließend über den Harn ausgeschieden. Unser Körper kann also mit geringen Mengen Blausäure mühelos fertig werden, ohne daß Schädigungen auftreten. Erst bei höheren Konzentrationen, bei denen der Entgiftungsmechanismus überfordert ist, kann die Blausäure ihr toxisches Potential voll entfalten, und entsprechende Vergiftungen sind die Folge.

Die Schädigungen durch Blausäure sind vielfältig und zum größten Teil auf die Fähigkeit zur Bildung stabiler Komplexe mit Metall-Ionen zurückzuführen. Dadurch werden viele wichtige Enzyme gehemmt, unter anderem auch die für die Zellatmung so wichtigen Cytochrome. Die Hemmung dieser Atmungsprozesse führt unweigerlich zum Absterben der Zellen.

Lediglich bei stark cyanogenen Pflanzen, das heißt Pflanzen, die sehr große Mengen an cyanogenen Glucosiden enthalten, können Konzentrationen in den entsprechenden Lebensmitteln erreicht werden, die unseren Entgiftungsmechanismus überfordern und deshalb zu gesundheitlichen Problemen führen. Aus diesem Grund müssen solche Nahrungsmittel – wenn sie in großen Mengen verzehrt werden – besonders aufbereitet werden, um die Gefahr einer Vergiftung auszuschließen.

Zu diesen Pflanzen gehören Bambus, Lein, Maniok oder Limabohnen (Tab. 2). Besonders die Cyanogenität des Manioks, der in den Tropen eine außerordentlich große Bedeutung als Grundnahrungsmittel hat, stellt ein großes ernährungsphysiologisches Problem dar.

BLAUSÄURE IN MANIOK UND RESULTIERENDE GESUNDHEITSPROBLEME

In den Tropen sind über 400 Millionen Menschen auf den Verzehr von Maniokknollen als Grundnahrungsmittel angewiesen; sie

TABELLE 2

Gehalt an cyanogenen Glucosiden in stark cyanogenen Nahrungspflanzen.

Pflanze	Gewebe	Gehalt an cyanogenen Glucosiden [mmol/kg]	freisetzbare Blausäure [mg/kg]
Maniok (<i>Manihot esculenta</i>)	Wurzelknollen	2-8	50-200
	(Extremwerte)	(1-25)	(25-650)
	Mehl (Nigeria)	0,02-11	0,5-300
Bambus (<i>Bambus vulgaris</i>)	Sproßspitzen	300	8.000
Limabohnen (<i>Phaseolus lunatus</i>)	Samen	2-75	50-2.000
Futterwicke (<i>Vicia sativa</i>)	Samen	2-20	50-500
Lein (<i>Linum usitatissimum</i>)	Samen	10-20	250-500

nehmen täglich bis zu einem Kilogramm Maniokprodukte zu sich. Leider sind diese Maniokknollen sehr stark cyanogen: Sie enthalten so große Mengen des cyanogenen Glucosides Linamarin (Formel 2), daß bereits der Verzehr von einigen hundert Gramm frischer Knollen tödlich wäre. Die Knollen müssen also »entgiftet« werden, bevor sie als Nahrungsmittel verwendet werden können.

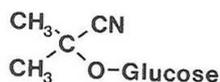
Im Prinzip ist eine solche Aufbereitung recht einfach: Die Knollen werden zerklei-

nernt, zum Beispiel geraspelt oder gemahlen – dabei gilt: je feiner, desto besser (Abb. 2). Dadurch werden die Pflanzenzellen zerstört, die giftigen Glucoside kommen mit den lytischen Enzymen in Kontakt, werden gespalten, und Blausäure wird freigesetzt. Anschließend, etwa während der Trocknung, dunstet die giftige Blausäure aus (Abb. 3). In der Regel weist das so entstandene Maniokmehl nur noch einen sehr geringen Gehalt an Blausäure und cyanogenen Glucosiden auf und kann gefahrlos als Grundnahrungsmittel verwendet werden.

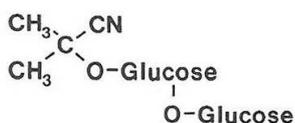
Leider werden häufig Fehler bei dieser Aufbereitung gemacht, zum Beispiel weil aufgrund extremer Hungersituationen die für die Entgiftung notwendigen Zeitintervalle nicht eingehalten werden – die Folge sind Blausäurevergiftungen. Das größte ernährungsphysiologische Problem stellen allerdings nicht die relativ selten vorkommenden letalen Vergiftungen dar, sondern die sehr häufig auftretenden chronischen Blausäureschädigungen, von denen häufiger gleich alle Einwohner eines Dorfes betroffen sind. Während die akuten Blausäurevergiftungen in erster Linie von der Blausäure selbst hervorgerufen werden, sind die chronischen Vergiftungserscheinungen meist auf Stoffwechselprodukte der Blausäure zurückzuführen.

FORMEL 2

Beispiele für cyanogene Mono- und Diglucoside.



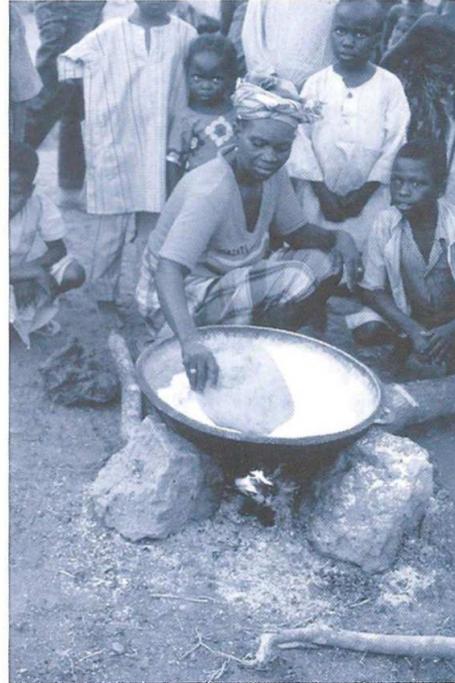
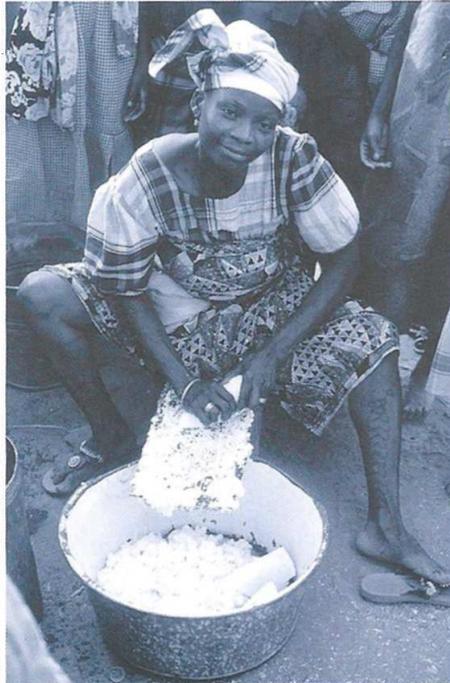
Linamarin



Linustatin

ABBILDUNGEN
2 UND 3

- Zerkleinern von Maniokknollen (links).
- Rösten von Maniokmehl (rechts).



Aufgrund der oben geschilderten Blausäureentgiftung durch die Rhodanase ist bei der permanenten Aufnahme von beträchtlichen, aber subletalen Mengen Blausäure eine ständige relativ hohe Rhodanidkonzentration im Blut festzustellen. Diese hohe Rhodanidkonzentration beeinflusst die Jodverfügbarkeit in der Schilddrüse, und es kommt bei regelmäßigem Verzehr von schlecht aufbereitetem Maniok zur Ausprägung der typischen Symptome eines Jodmangels; diese reichen von der Kropfbildung bis zum Kümmerwuchs (Kretinismus). Die Ursachen für verschiedene neuronale Erkrankungen (Neuropathien, Lähmungen usw.), die offensichtlich auch durch den Verzehr blausäurehaltiger Nahrung hervorgerufen werden, sind bislang noch nicht aufgeklärt. Des weiteren gibt es viele Hinweise, daß bestimmte Formen der Diabetes (Zuckerkrankheit) ebenfalls durch zu hohe Mengen an Blausäure in der Nahrung ausgelöst werden.

Für die meisten Menschen der Länder der »Dritten Welt«, die Maniokprodukte als Grundnahrungsmittel verwenden, wäre es eine enorme Hilfe und ein sehr großer Fortschritt, Maniokpflanzen anbauen zu können, deren Knollen keine oder nur sehr geringe Mengen an cyanogenen Glucosiden enthalten; allerdings sollten die Blätter nach

wie vor stark cyanogen sein, damit die hohe Resistenz gegen Herbivore erhalten bleibt.

Über die klassische Züchtung wurden bislang keine Maniokpflanzen hervorgebracht, die diese Eigenschaften aufweisen. Im Rahmen einer internationalen Kooperation wird derzeit versucht, die wissenschaftliche Basis zu schaffen, um transgene Maniokpflanzen zu produzieren, deren Stoffwechsel der cyanogenen Glucoside in der gewünschten Weise moduliert ist. Voraussetzung für ein derartiges Vorgehen ist die umfassende Kenntnis vom Stoffwechsel der cyanogenen Glucoside und deren biochemische Grundlagen.

DER STOFFWECHSEL DER BLAUSÄURE- VERBINDUNGEN

In den letzten zehn Jahren wurden in unserem Labor die Stoffwechselvorgänge cyanogener Glucoside intensiv analysiert. Die entsprechenden Arbeiten, die an vielen unterschiedlichen cyanogenen Versuchspflanzen (z. B. Kautschukbaum, Lein oder Maniok) durchgeführt wurden, haben dazu geführt, daß sich ein umfassendes grundlagenwissenschaftliches und analytisches Potential für die Untersuchung cyanogener Substan-

zen in der Arbeitsgruppe Pflanzenphysiologie etabliert hat. Unsere Arbeitsgruppe konnte zeigen, daß die cyanogenen Glucoside – neben den oben dargestellten postmortalen Prozessen – auch in der intakten Pflanze unter kontrollierten Bedingungen abgebaut werden. Es konnte nachgewiesen werden, daß die Metabolisierung cyanogener Glucoside sehr eng an eine Verlagerung dieser Substanzen von einem Organ in ein anderes gekoppelt ist. Diese Prozesse finden ohne Freisetzung von Blausäure statt. Die entsprechenden Vorgänge, besonders die dabei beteiligten Transportprozesse, bilden einen Schwerpunkt unserer Forschungen.

Ein Langstreckentransport innerhalb der Pflanze bedeutet, daß die zu transportierenden Substanzen die Zelle, in der sie akkumuliert sind, verlassen müssen. Dabei kommen sie zwangsläufig mit den hydrolytischen Enzymen in der Zellwand in Kontakt. Für die cyanogenen Glucoside würde dies bedeuten, daß sie, sobald sie aus der Zelle exportiert werden, gespalten würden und Blausäure freigesetzt würde. Aber dies geschieht nicht.

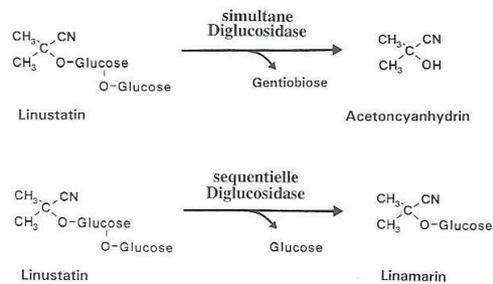
Unsere Untersuchungen haben ergeben, daß die zu transportierenden cyanogenen Glucoside vor ihrer Verlagerung durch Anheften eines weiteren Zuckerteils (Glucosylierung) in Diglucoside umgewandelt

werden – so entsteht zum Beispiel aus Linamarin das Linustatin (Formel 2). Ein solches Diglucosid wird nicht von den extrazellulären β -Glucosidasen angegriffen und kann nun – unter Passage des Extrazellulärraumes – über die üblichen Wege des Langstreckentransportes von einem Gewebe in ein anderes verlagert werden, ohne daß dabei Blausäure freigesetzt wird. In den Organen, in die die Diglucoside importiert werden, müssen sie auch wieder gespalten (hydrolysiert) werden. Dabei gibt es zwei Alternativen (Formel 3):

1. Es wird lediglich die neu angeknüpfte (terminale) Glucose entfernt (sequentielle Hydrolyse). Dabei entsteht wieder das ursprüngliche Monoglucosid, das umgehend in der Zentralvakuole (des importierenden Gewebes) akkumuliert wird.
2. Beide Glucoseeinheiten werden in einem Schritt abgespalten (simultane Hydrolyse). Dabei entstehen – wie bei der verletzungsbedingten Cyanogenese – Hydroxynitrile, allerdings nun unter kontrollierten Bedingungen, so daß die Blausäure von der Pflanze vollständig refixiert wird und nicht in die Atmosphäre entweicht (vollständige Metabolisierung der cyanogenen Verbindungen).

FORMEL 3

Die Spaltung cyanogener Diglucoside.



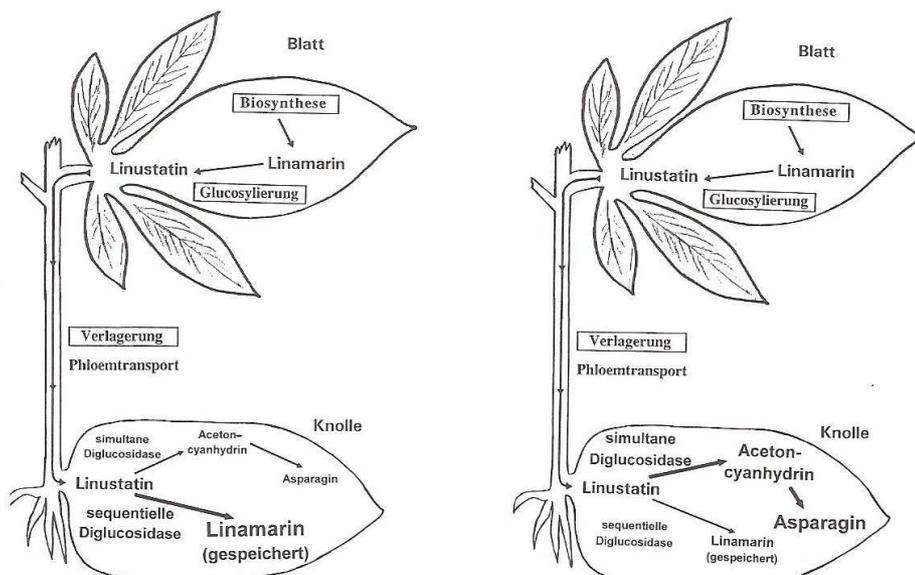
Im ersten Fall kommt es zu einer »einfachen« Verlagerung der cyanogenen Glucoside von einem Organ in ein anderes. Im zweiten Fall werden die cyanogenen Glucoside zu nicht-cyanogenen Verbindungen umgebaut; das Endprodukt ist die einfache Aminosäure Asparagin. Der Spaltung der Transportmetaboliten (Diglucoside) kommt also eine zentrale Bedeutung bei der Regulation des Stoffwechsels cyanogener Verbindungen zu.

Zur Zeit werden in unserer Arbeitsgruppe die entsprechenden Enzyme – die »simultanen« und »sequentiellen« Diglucosidasen – gereinigt. Es ist vorgesehen, dann Gene dieser Enzyme zu charakterisieren und durch Ausschalten beziehungsweise durch Überexpression in transgenen Pflanzen das aktuelle Verhältnis von simultaner zu sequentieller Diglucosidase zu verändern.

ABBILDUNG 4

Links: Akkumulation von Linamarin in den Knollen »normaler« Maniokpflanzen.

Rechts: Metabolisierung cyanogener Glucoside in »transgenen« Maniokpflanzen.



Da im Maniok die cyanogenen Glucoside hauptsächlich in den Blättern synthetisiert werden, ergibt sich folgende Sachlage: Das in den Blättern synthetisierte Linamarin wird zu einem gewissen Teil dort akkumuliert und schützt die Pflanze vor Herbivoren. Ein anderer Teil wird zum entsprechenden Diglucosid Linustatin umgebaut und in die Knollen verlagert. Dort wird – fast ausschließlich über den sequentiellen Weg – das Diglucosid hydrolysiert. Dadurch wird also der Löwenanteil des importierten Diglucosides in den Knollen als cyanogenes Monoglucosid gespeichert und bedingt die Giftigkeit der Maniokknollen (Abb. 4a).

Es ist geplant, solche Maniokpflanzen zu produzieren, die eine sehr hohe Aktivität der simultanen und eine geringe der sequentiellen Diglucosidase in ihren Knollen aufweisen. Mittels gentechnologischer Methoden soll die Zelle dazu veranlaßt werden, das entsprechende Gen für die simultane Diglucosidase viel stärker als bisher abzulesen (Überexpression) und das für die sequentielle Diglucosidase auszuschalten, und zwar spezifisch in den Zellen der Wurzelknollen.

Im Gegensatz zu den ursprünglichen Maniokpflanzen würden in den genetisch ver-

änderten Pflanzen die in die Wurzeln verlagerten Diglucoside nicht mehr als cyanogene Glucoside akkumuliert werden, sondern sie würden größtenteils zur Aminosäure Asparagin ab- beziehungsweise umgebaut werden. In diesen Pflanzen würden die Blätter nach wie vor stark cyanogen – und damit geschützt vor vielen Herbivoren – sein, doch die Knollen würden, wie gewünscht, einen extrem reduzierten Gehalt an toxischen cyanogenen Glucosiden aufweisen (Abb. 4b). Die entsprechenden Enzyme für die angestrebte Metabolisierung der in die Knollen importierten Diglucoside sind in ausreichendem Maße bereits in den Knollen der »natürlichen« Maniokpflanzen vorhanden.

Wenn das dargestellte Vorhaben realisiert und erfolgreich abgeschlossen wird, könnten viele Menschen vor blausäurebedingten Schädigungen bewahrt werden. Da das Problem der hohen Blausäurekonzentrationen in Maniokprodukten offensichtlich nicht durch klassische Ansätze gelöst werden kann, demonstriert dieses Projekt anschaulich die Notwendigkeit, gentechnologische Methoden in der modernen Pflanzenzüchtung einzusetzen. ■



DIRK SELMAR

(Prof. Dr.); Jg. 1955, studierte Biologie und Chemie in München und Braunschweig; 1986 Promotion über die pflanzliche Cyanogenese; 1986/87 Fulbright-Stipendium für einen Forschungsaufenthalt an der University of California; 1988-1993 Hochschulassistent am Botanischen Institut der TU Braunschweig; 1992 Habilitation im Fach Botanik über die Metabolisierung cyanogener Verbindungen in Pflanzen; seit 1993 Hochschuldozent (C2) und seit 1995 mit der Wahrnehmung der Aufgaben der Professur für Pflanzenphysiologie am Botanischen Institut beauftragt; 1996 zum außerplanmäßigen Professor an der TU Braunschweig ernannt. Arbeitsgebiete: Biochemie und Physiologie des pflanzlichen Sekundärstoffwechsels sowie Lebensmittelchemische und ökotoxikologische Aspekte der Angewandten Botanik.