



Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg
Hamburg University of Applied Sciences

Fakultät Life Sciences
Studiengang Ökotoxikologie

Die Bedrohung des Kakaoanbaus durch Pilzpathogene in Mittel- und Südamerika
– Qualitätsanalysen an Rohkakao von teilresistenten Klonen

Bachelorarbeit

Tag der Abgabe:

28.02.2011

Vorgelegt von:

Imke Jens

Betreuender Prüfer:

Prof. Dr. Michael Häusler

Zweiter Prüfer:

Dr. rer. Nat. Daniel Kadow

Biocenter Klein Flottbek

Ohnhorststraße 18

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	I
Verzeichnis verwendeter Geräte	I
Verzeichnis verwendeter Chemikalien	III
Abbildungsverzeichnis.....	IV
Tabellenverzeichnis.....	IV
Zusammenfassung.....	VI
Abstract.....	VI
1 Einführung.....	1
2 Hintergrund.....	2
2.1 Die Ernte.....	3
2.2 Die Fermentation	3
2.3 Die Trocknung	4
2.4 Die Varietäten	5
2.4.1 Criollo.....	5
2.4.2 Forastero (Amelonado).....	6
2.4.3 Nacional.....	6
2.4.4 Trinitario.....	6
2.5 Kakaokrankheiten	7
2.5.1 Frosty Pod	8
2.5.1.1 Verbreitung der Frosty Pod in Mittel- und Südamerika	8
2.5.1.2 Weiterverbreitung: Präventivmaßnahmen.....	9
2.5.2 Black Pod.....	9
2.5.2.1 Verbreitung der Black Pod	10
2.5.2.2 Präventivmaßnahmen: Black Pod.....	10
2.5.3 Hexenbesenkrankheit	10
2.5.3.1 Verbreitung der Hexenbesenkrankheit.....	11
2.5.3.2 Präventivmaßnahmen: Hexenbesenkrankheit	11
3 Qualitätsbeurteilung von Rohkakao.....	12
3.1 Qualität und Handel	12
3.2 Qualität und Kakao	12
3.2.1 Der Kakaosamen	13

3.2.2 Das Aroma.....	13
3.2.3 Fettgehalt und Fettzusammensetzung.....	13
3.2.4 Reifbedingte Unterschiede.....	14
3.2.5 Die Methylxanthine	14
4 Aus gewählte Parameter für die Qualitätsanalyse	14
5 Genotypen Forschung – Resistenzeigenschaften gegenüber Pilzpathogenen .	15
6 Qualitätsanalysen.....	16
7 Durchführung der Analysen.....	17
7.1 Durchführung physikalischer Analysemethoden	17
7.1.1 Der Schnitttest (engl. Cut-Test)	17
7.1.2 Das durchschnittliche Samengewicht	18
7.1.3 Bestimmung des Wassergehalts.....	18
7.2 Durchführung chemischer Analysemethoden	18
7.2.1 Die Gesamtfettbestimmung	18
7.2.2 Die pH-Wert Bestimmung	18
7.2.3 Organische Säuren	19
7.2.4 Theobromin- / Coffeinbestimmung aus Rohkakao.....	20
7.2.5 Aminosäurenbestimmung aus Kakao	21
7.2.6 Zuckerbestimmung aus Kakao	23
7.2.7 Phenolische Inhaltsstoffe	24
7.2.7.1 Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes mit Folin-Ciocalteus-Reagenz am Photometer	24
7.2.7.2 Bestimmung der Polyphenole mit der HPLC.....	25
8 Beschreibung und Auswertung der Ergebnisse.....	26
8.1 Physikalische Methoden	26
8.1.1 Schnittbild CATIE R-1	28
8.1.2 Schnittbild CATIE R-4	29
8.1.3 Schnittbild CATIE R-6.....	30
8.1.4 Schnittbild PMCT-58	31
8.1.5 Schnittbild CC-137.....	32
8.1.6 Zusammenfassung, Auswertung Schnitttest	33
8.2 Der Wassergehalt.....	33
8.3 Auswertung Chemische Analysen	33

8.3.1 Gesamtfettanteil.....	33
8.3.2 Der pH-Wert und die organischen Säuren	35
8.3.3 Die Methylxanthine	37
8.3.4 Gesamtgehalt an freien Aminosäuren und reduzierenden Zuckern.....	39
8.3.5 Der Polyphenolgehalt.....	41
8.4 Zusammenfassung der Analysen	42
9 Ausblick.....	43
10 Literaturverzeichnis	44
11 Eidesstattliche Erklärung.....	48
12 Anhang.....	49

Abkürzungsverzeichnis

°Celsius	°C
Bar (Druck)	bar
Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza	CATIE
destilliertes Wasser	dest. Wasser
Fettfreie Trockenmasse	ffTM
Gramm	g
Hochleistungsflüssigkeitschromatographie	HPLC
Kilogramm	kg
Liter	L
Mikrogramm	ug
Mikroliter	uL
Millibar	mbar
Milligramm	mg
Milliliter	mL
Minute	min
Nanometer	nm
Polyvinylpyrrolidon	PVPP
Sekunde	sek
Umdrehungen pro Minute	U/min

Verzeichnis verwendeter Geräte

Autosampler	Merck Hitachi, AS200-Autosampler
Autosampler	Waters, Autosampler 717 Plus
Degasser	Phenomenex, Degasser DG-4400
Degasser	Phenomenex, 4 Kanal Degasser
Detektor	Waters, Photo Dioden Array Detector 996
Detektor	Waters, Differentialrefraktometer R401
Detektor	Merck Hitachi F-1050
Detektor	Merck Hitachi, UV-VIS-Detektor L-7420
Exsikator	
Extraktionsapparatur	von GFL

(Fett) Kochstation	
Gefriertrockeneinheit	Christ, ALPHA I-6 mit PFEIFFER Vacuumpumpe ONF 16
HPLC Quantifikation	Waters, Millenium Software
Kugelmühle	Retsch, MM200
Magnetrührplatten, diverse	IKAMAG RET (Oberflächenheizplatte)
Membranpumpen, diverse	Vacuubrand
Mischkammer	Knauer, dynamische Mischlammer
Mixer (zum zerkleinern des Rohkakaos)	Braun
pH-Meter	METROHM, 654 pH-Meter
Photometer	amersham pharmacia biotech, Ultrospec 3000
Pipetten	Eppendorfpipetten und Vollpipetten
Pumpe	Knauer, Smartline pump 1000
Pumpe	Waters, Smartline pump 1000
Pumpe	Knauer, HPLC Pumpe 64
	Resona technics, LABO ROTA SE320 mit Vacuubrand
Rotationsverdampfer	12433 Membranpumpe
	Resona technics, LABO ROTA SE320 mit Vacuubrand
Rotationsverdampfer	Membranpumpe
Säulenofen	Waters, Säulenofen mit Temperaturkontrolleinheit
Schneidbrett	
Thermocycler	Eppendorf, Thermomixer comfort
	Merck, LiChroCART 250-4 [Lichrospher 100 RP-18 (5 um)]
Trennsäule	
Trennsäule	Thermo Scientific, Hypersil APS-2 (125*4mm)
Trennsäule	Merck, Lichrospher 60 RP select (5 um)
Trennsäule	Kationenaustauscher Aminex HPX-87H
Trockenschrank	Memmert, Modell 500
Ultraturrax Rührer	ULTRA-TURRAX T25
UV-Wasserbad	Bandelin Sonorex, Super RK 510H
Vakuumtrockenschrank	W.C. Heraeus GmbH, FabrikatNr. 3710 mit

	Membranpumpe von Vakuubrand Fab.Nr: 13931
Vorsäule	Lichrosphere 100RP-18 (5µm)
Vorsäule	BioRad, Micro Guard Cation H Cartridge
Waage 1	Sartorius, CP4201
Waage 2	sartorius, Analytic AC 210S
Wasserbad	GFL
Zentrifuge 1	Heraeus, Megafuge IIR, Thermo scientific
Zentrifuge 2	Heraus Instruments, Biofuge fresco

Verzeichnis verwendeter Chemikalien

Aceton/Wasser-Gemisch	Merck, 14 und dest. Wasser
Acetonitril (lichrosov)	Merck, 29
Benzoessäure	Merck, für Analytik 136
Borsäure (lichrosov)	Merck, 165
Carrenz I	Merck, 929 Kaliumhexacyanoferrat (II)-Trihydrat
Carrenz II	Merck, 920 Zinkacetat Dihydrat
Catechinstandard	Fluka
Epicatechinstandard	Sigma
Epicatechin (Eichreihe)	Roth, 0011391
Essigsäure (konzentriert)	Sigma-Aldrich, 9749
Folin-Ciocalteus	Merck, 3264
Fructose	Merck, 5323
Glucose	Sigma Cell Culture, G- 7021
Kaliumhydroxidlösung	Merck, 834
Methanol (lichrosov)	Merck, 6007
Natriumacetat (lichrosov)	Sigma-Aldrich, 00071185
Natriumcarbonat (20%)	Merck, 1.06392
n-Hexan	Merck, für Analytik
Petrolether	Merck, 632
Phthaldialdehyd (lichrosov)	Fluka Analytical, 79760
Protocatechinsäurestandard	Aldrich
PVPP	Fluca Analytical, 77627

Poly(venylpolypyrrolidone)	
Saccharose	Merck, 7654
Tetrahydrofuran (lichrosov)	Merck, 8101
Triflouressigsäure (lichrosov)	Merck, 00808260
Wasser (destilliert)	
Wasser lichrosov	J.T.Baker, 4218

Abbildungsverzeichnis

Seite

Abb. 1	Die Varietäten	5
Abb. 2	Beispiel für schiefrige, schiefrig violette- und vollviolette- Kakaobohne	27
Abb. 3	Beispiel für schimmelbefallene Kakaobohnen	27
Abb. 4	Beispiel für braun- und hellbrechende- Kakaobohne	27
Abb. 5	Schnittbild CATIE R-1	28
Abb. 6	Schnittbild CATIE R-4	29
Abb. 7	Schnittbild CATIE R-6	30
Abb. 8	Schnittbild PMCT-58	31
Abb. 9	Schnittbild CC-137	32
Abb. 10	Gesamt fettanteil der Proben im Vergleich	34
Abb. 11	Milch und Essigsäuregehalte der Proben im Vergleich	36
Abb. 12	Theobromin- und Coffeingehalte der Proben im Vergleich	38
Abb. 13	Vergleich der Gehalte an freien Aminosäuren	39
Abb. 14	Gesamtgehalt reduzierender Zucker im Vergleich	40
Abb. 15	Gesamtphenolgehalt, (-)-Epicatechin und (+)-Catechin im Vergleich	41

Tabellenverzeichnis

Seite

Tab. 1	HPLC Konditionen zur Bestimmung der organische Säuren	19f
Tab. 2	HPLC Konditionen zur Bestimmung der Methylxanthine	21
Tab. 3	HPLC Konditionen zur Bestimmung der freien Aminosäuren	22f
Tab. 4	HPLC Konditionen zur Bestimmung von reduzierenden Zuckern	24
Tab. 5	HPLC Konditionen, Bestimmung der Polyphenole	25f

Tab. 6	pH-Werte	35
Tab. 7	Quotient aus Theobromin- und Coffeingehalten	38

Zusammenfassung

Weltweit wird der jährliche Gesamtertrag an Rohkakao durch den Befall mit Pilzpathogenen und anderen Schädlingen dezimiert. In der Vergangenheit führte dies zu erheblichen Ernteaufschlägen in Mittel- und Südamerika. Viele Farmer mussten bereits auf den Anbau anderer Nutzpflanzen umsteigen. Ein Forschungsprojekt des „Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza“ kurz CATIE, hat sich zum Ziel gesetzt Genotypen mit Resistenzeigenschaften gegenüber den aggressivsten Pathogenen, und besonders guten Ernteergebnissen zu entwickeln um diese anschließend das Pflanzgut zu vertreiben und so der Entwicklung der vergangenen Jahrzehnte gegenzusteuern. Nun wurden erstmals sechs Klone ausgewählt, in einem Feldversuch ausgebracht und zu Rohkakao verarbeitet. Fünf dieser Klone werden im Rahmen dieser Ausarbeitung auf Ihre Qualität geprüft und anschließend bewertet. Untersuchte Qualitätsparameter sind dabei das Schnittbild, der Wassergehalt, der Fettgehalt, der pH-Wert, der Gehalt an organischen Säuren, Methylxanthinen, freien Aminosäuren, reduzierender Zucker und Polyphenole. Die ermittelten Ergebnisse zeigen wie die Qualität der Proben einzuschätzen ist und lassen Rückschlüsse auf eventuelle Defizite in der Nacherntebehandlung zu.

Abstract

The worldwide production of raw cacao suffers as a result of the disastrous impact of diverse fungus pathogens and pests to the annual yield. In the past this led to a significant yield decline throughout Central- and South America. Many farmers had to change their cultivation to other tropical crops. A research project from CATIE attempts to find genotypes with resistance properties against the most aggressive pathogens that also provide good crop yield features. Six Clones got selected and have been planted and harvested in a field trial. Five of these Clones got examined on quality parameters and have been evaluated afterwards. Quality parameters like the Cut-Test, the fat content, the pH-value, the content of organic acids, methylxanthine, free aminoacids, reducing sugars and polyphenole have been included in the evaluation. The ascertained results provide the possibility of evaluating and improving the raw bean quality properly.

1 Einführung

Kakao (*Theobroma cacao L.*) ist weltweit eine der wichtigsten Kultur- und Nutzpflanzen zur Herstellung von Genuss- und Kosmetikprodukten. Durch Schädlings- und Pilzbefall entsteht jährlich ein Schaden von einigen Milliarden Euro, besonders betroffen sind dabei Gebiete in Mittel- und Südamerika. Um großen Ernteausfällen durch Pilzbefall in Zukunft vorbeugen zu können, wurde ein Forschungsprojekt des „Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza“ kurz CATIE in Costa Rica ins Leben gerufen. Seit den achtziger Jahren wird nun schon nach Genotypen mit Resistenzeigenschaften geforscht. Das Hauptaugenmerk liegt dabei auf Resistenzen gegenüber *Moniliophthora roreri*. Sechs Genotypen, welche sich durch besonders hohe Toleranz gegenüber *Moniliophthora rorei* und gute Ernteerträge auszeichnen, wurden für ein Zuchtprogramm zur Verbesserung des mittelamerikanischen Kakaoanbaus ausgewählt.

Im Rahmen dieser Arbeit soll erörtert werden, inwieweit fünf dieser Genotypen für die Produktion hochwertigen Rohkakaos nutzbar sind. Dies geschieht mit Hilfe bereits standardisierter Qualitätsprüfverfahren, die zunächst ausführlich beschrieben und später auf die Proben angewendet werden.

Die der Arbeit zu Grunde gelegten Forschungsfragen lauten:

1. In wie weit ist der Kakaoanbau in Mittel- und Südamerika durch den Befall mit unterschiedlichen Pathogenen bedroht? Welche Pathogene spielen dabei eine entscheidende Rolle? Welche Gegenmaßnahmen wurden bisher angewendet?
2. Wie ist die Qualität der fünf durch CATIE zur Verfügung gestellten Genotypen zu beurteilen?

Um einen Einstieg in das Thema „Kakao“, den heutigen Stand der Genotypenforschung, sowie das Ausmaß und den Einfluss von Kakaokrankheiten zu bekommen, ist der Arbeit ein theoretischer Teil vorangestellt. Dies soll dabei helfen einen Überblick zu bekommen und die thematische Einordnung erleichtern.

2 Hintergrund

Der Kakaobaum *Theobroma cacao* L. gehört zur Familie der *Malvaceae*. Ursprünglich stammt *Theobroma cacao* L. aus Mittel- und Südamerika (Alverson et al., 1999, S. 1474). Dementsprechend gedeiht die Pflanze in tropischen Mischwäldern am besten. Die Temperatur sollte dabei das Jahresmittel von 21° C nicht unterschreiten. Die Boden- und Luftfeuchte ist optimaler Weise konstant, es wird eine jährliche Niederschlagsmenge von 2000 bis 8000 mm benötigt. Die erforderlichen Bedingungen finden sich 20° nördlich bis 20° südlich des Äquators (Fincke, 1965, S.35).

Im Jahre 1753 gab Linnaeus der Kakaopflanze den Namen „*Theobroma cacao*“, was so viel wie „Speise der Götter“ bedeutet. Die Baumgattung *Theobroma* umfasst 22 Unterarten, wobei *Theobroma cacao* L. weltweit die größte Bedeutung inne hat und am weitesten verbreitet ist. Kakao wird sowohl in Mono- als auch in Mischkulturen angepflanzt. In Monokulturen können bis zu 10.000 Bäume pro Hektar angepflanzt werden, in der Regel finden sich allerdings zwischen 1000 bis 2000 Bäume pro Hektar Anbaufläche. In Mischkulturen mit anderen Nutzpflanzen wie Bananen, Kokos oder Papaya finden sich dann dementsprechend kleinere Pflanzdichten (Rohsius, 2007, S.8).

Der Kakaobaum weist in der Regel einen Hauptstamm und drei bis fünf Hauptäste (Jorquette) auf. Diese Jorquettes bringen fächerförmig angeordnete Seitenzweige hervor. Unter- und oberhalb der Jorquetten entwickeln sich außerdem so genannte Chupons, aus denen sich ebenfalls Jorquetten bilden können. Nach etwa 10 Jahren ist der Baum ausgewachsen. Blütenstände treten sowohl am Hauptstamm (Kauliflorie) als auch an den Ästen (Ramiflorie) auf. Blütenbildung kann über das ganze Jahr verteilt auftreten (Milz, 2006, S.8).

Die, aus Stecklingsvermehrung gezogenen Pflanzen, werden als Klone bezeichnet. Sie werden aus den ortotroph wachsenden Chupons gezogen. Sie bilden weder einen Hauptstamm noch eine Hauptwurzel aus und wachsen buschig verzweigt. In der Regel werden die Bäume für den kommerziellen Anbau aus Kakao-samen gezogen (Rohsius, 2007, S. 8). Rohkakao gehört heute weltweit zu den wichtigsten Nutzpflanzen, zur Herstellung von Genussgütern (Hebbar, 2007, S. 1658). Grundsätzlich wird die Art *Theobroma cacao* L., den Qualitäten entsprechend, in Edel- und Konsumkakao unterteilt (Dand, 1999, S. 20).

Im Handelsjahr 2009 wurden 36% des weltweiten Exportgutes an Rohkakao von der Elfenbeinküste produziert und verschifft. Auf Platz zwei bis fünf liegen Ghana (24%), Indonesien (16%), Nigeria (6%) und Kamerun (4%). 86% des weltweiten Bedarfs wird durch die Produktion in diesen Anbaugebieten gedeckt. Europa, Asien und Amerika sind die größten Abnehmer der Ware (Parker, 2009, S. 9ff).

2.1 Die Ernte

Die Ausreifung einer Kakaofrucht dauert etwa 4-9 Monate, von der Befruchtung der Kakaoblüte bis zur Erntereife der Frucht. Das zur Ernte geeignete Reifestadium erstreckt sich über rund zwei bis drei Wochen. Werden die Früchte binnen dieser Frist nicht abgeerntet besteht die Gefahr, dass die Samen auskeimen. Das Abernten der reifen Früchte kann außerdem Schädlingsbefall vorbeugen. Es ist jedoch ebenso unerlässlich die Früchte nicht vorzeitig abzuernten, da binnen der letzten 27 Reifetage innerhalb der Pulpa Zucker gebildet wird. Dies ist für den nachfolgenden Fermentationsprozess unerlässlich. Erntezeiten sind von den klimatischen Bedingungen der Anbauregion abhängig. In den Monaten September bis März werden allerdings 80% des weltweiten Jahresertrags eingebracht (Fincke, 1965, S. 44f).

2.2 Die Fermentation

Dieser Vorgang dient in erster Linie der Bildung von Aromavorstufen in den Kakaosamen. Das Ausbilden der Aromavorstufen durch die Fermentation ist wichtig um nach der anschließenden Trocknung und Röstung ein typisches Rohkakaoaroma zu erhalten. Außerdem wird auf diese Weise die Pulpa, das den Samen umgebende Fruchtmus, vergoren und so von der Samenschale gelöst. Um den Fermentationsprozess zu initiieren werden die aus der Frucht ausgelösten Samen samt Pulpa, für mehrere Tage, in Haufen oder Kisten gelagert (Fincke, 1965, 47ff). Der Fermentationsprozess ist in mehrere Phasen unterteilt. Während der ersten, anaeroben Phase metabolisieren Hefen die in der Pulpa enthaltene Zitronensäure und bauen Zucker zu Ethanol ab. Durch die Aktivität von Milchsäurebakterien entsteht außerdem Milchsäure. Auch polymere Bestandteile der Pulpa wie Pektine werden durch Enzymaktivitäten abgebaut. Sind nun die festen Pulpabestandteile aufgelöst fließen sie ab und Sauerstoff kann in die Fermentationsmasse eindringen. Hiermit wird die zweite, aerobe Phase der Fermentation initiiert. Nun findet

die Oxidation des Ethanol durch Essigsäurebakterien zu Essigsäure statt. Dabei entstehen Temperaturen von bis zu 55°C und die Samen sterben ab (Rohsius, 2007, S.15ff). Zur gleichmäßigen Wärmeverteilung ist das gelegentliche Umwälzen der Fermentationsmasse unerlässlich. Die Zellwände sind nun durchlässig und die Zellsäfte können den Kakaosamen durchdringen. In der letzten Phase der Fermentation erfolgt die Bildung von Farbstoffen und Aromavorstufen. Allein die alkoholische Gärung im ersten Stadium erfolgt unter Sauerstoffausschluss (anaerob). Alle nachfolgenden Schritte sind aerob (Fincke, 1965, S. 47ff). Mehrere Faktoren nehmen Einfluss auf die benötigte Fermentationsdauer. Der Genotyp der Samen ist einer dieser Faktoren. So brauchen Criollos (siehe Abschnitt 2.4.1) nur etwa zwei bis drei Tage zur optimalen Ausbildung gewünschten Aromavorstufen. Forasteros (siehe 2.4.2) benötigen für diesen Vorgang rund sechs bis sieben Tage. Um die optimale Entwicklung von Aromavorstufen zu gewährleisten ist es wichtig die Fermentationszeit dem jeweiligen Erntegut anzupassen (Rohsius, 2007, S. 16). Maßgebliche Faktoren im Fermentationsprozess sind dabei das Ausgangsmaterial, die Menge der verwendeten Samen, die Durchlüftung, die Häufigkeit und die Zeitpunkte der Durchmischung sowie die Isolierung der Masse (Rohsius, 2007, S. 189).

2.3 Die Trocknung

Rohkakao sollte nicht mehr als 8% Wasser enthalten. Dies ist eine wichtige Grundvoraussetzung für die industrielle Weiterverarbeitung. Zum Zwecke der Trocknung werden die Samen meist auf Matten oder Schiebeböden ausgebreitet und sonnengetrocknet. Diese Art der Trocknung dauert durchschnittlich sieben Tage (Fincke, 1965).

In Regenzeiten findet die Trocknung auch teilweise durch Öfen oder Holzfeuer statt, wobei das Risiko besteht, dass sich so genannte Fehleraromen (engl. off-flavours) bilden und der Rohkakao rauchig schmeckt (Rohsius, 2007). Sind die Samen nicht ausreichend getrocknet besteht die Gefahr des Schimmelpilzbefalls, dies geht meist einher mit einer erhöhten Belastung durch Mycotoxine.

Schimmelpilzbefall kann außerdem zur Bildung von Fehleraromen führen. Langsame Trocknungsmethoden haben außerdem den Vorteil besser ausgebildeter Aromavorstufen und eines geringeren Rest-Essigsäuregehalts. Außerdem werden so, in kleinen Mengen, Amadori-Verbindungen (reduzierende Zucker und freie

Aminosäuren) gebildet, die während des Röstvorgangs die Maillard-Reaktion eingehen und so die Grundbausteine für das spätere Kakaoaroma bilden. (Rohsius, 2007)

2.4 Die Varietäten

Traditionell wird dabei in Edel- und Konsumkakao unterschieden. Zu den Edelkakaosorten zählt dabei der Criollo. Unter Konsumkakao versteht man die „Upper Amazon-“ und „Lower Amazon Forasteros“. Typisch ist zum Beispiel der „Amelodano“ mit den weltweit größten Ernteertragsanteilen. Der Trinitario ist eine Kreuzung der beiden Qualitäten, stammt ursprünglich aus Trinidad und Tobago und zeichnet sich durch sein besonderes Aroma aus. Siehe dazu auch Abbildung 1 (Rohsius, 2007, S.2ff).

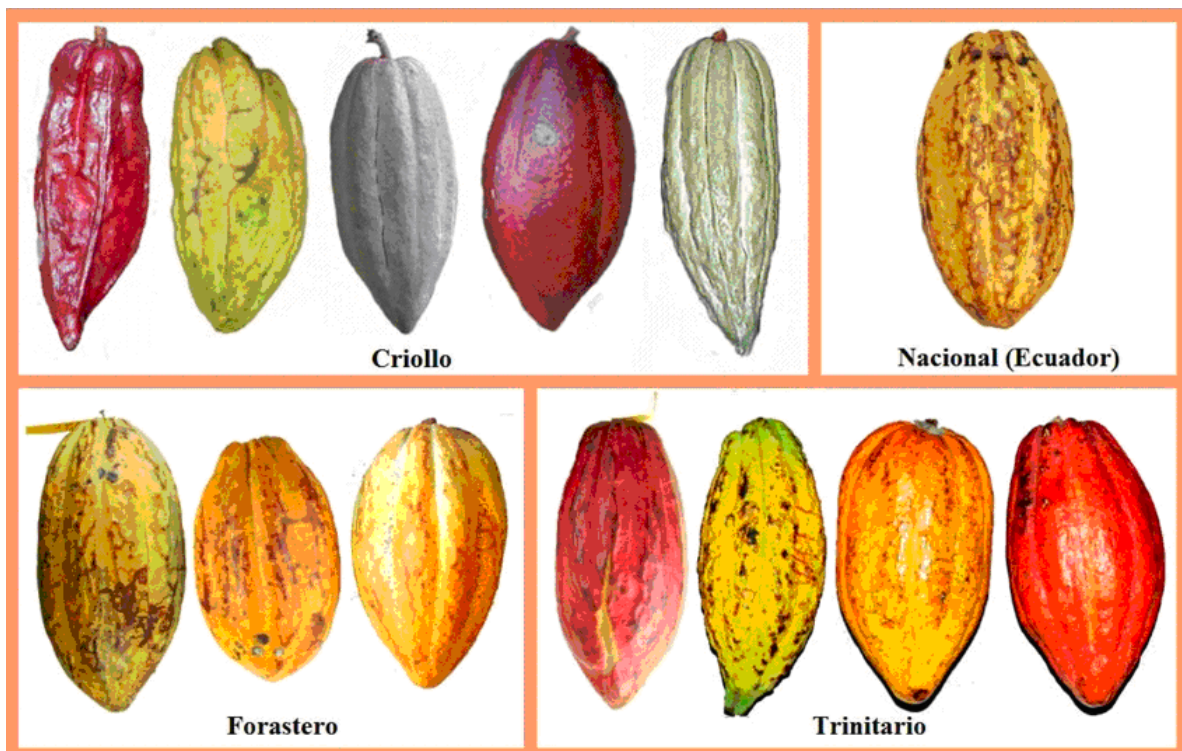


Abbildung 1: Die Varietäten

Quelle: Cocoa Atlas 2010

2.4.1 Criollo

Criollos besitzen gegenüber den Forasteros ein feineres Aroma sowie einen drei- bis vierfach höheren Coffeingehalt (Rohsius, 2007, S. 17). Daher wird er zu den Edelkakaos gezählt und spielt eine wichtige Rolle bei der Herstellung von Edelkakaos- und Schokoladenprodukten. Allerdings ist der Criollo sehr anfällig für Krankheiten, was die Kultivierung erschwert und die Erträge klein hält (Wolters, 1999, S. 128ff). Eine typische Form für die ausgereiften Früchte ist warzig, tief gefurcht und

schief zugespitzt geformt (Moreno, 2000, S. 164ff). Die Früchte haben Ihre Reife erreicht, wenn sie weich und rot gefärbt sind. Durchschnittlich enthalten sie etwa dreißig Samenkerne, welche entweder farblos oder hell-violett gefärbt sind (Dand, 1999, S.22).

2.4.2 Forastero (Amelonado)

Der Begriff „Amelonado“ beschreibt die Fruchtform (spanisch für „melonenförmig“). Die Früchte sind breit, kurz, manchmal stumpf, manchmal spitz zulaufend. Am Stielansatz kann die Frucht Flaschenhalsartig verengt sein. Die Fruchtschale ist glatt und weist zehn Furchen auf (Wolters, 1999, S. 128ff). Die Früchte enthalten etwa vierzig Samen, die in der Regel kleiner und dunkler sind als die des Criollo. Die Farbe der Samen kann von hell- bis dunkelviolett variieren. Der Amelodano findet weltweit die größte Verbreitung, und ist die meist produzierte Rohkakaosorte der Welt (Dand, 1999, S.22). Amelodano Kakao gehört zu den „Lower Amazon Forasteros“, welcher wiederum andere signifikante Charakteristika aufweist als der „Upper Amazon Forastero“ (Cervantes-Martinez et al. 2007, S. 231f).

2.4.3 Nacional

Die Früchte des Nacional haben eine raue Oberfläche und eine dicke Fruchtwand, sind vergleichsweise groß und grün gefärbt. Die Samen sind größer und besitzen ein helleres Violett als ähnlich erscheinende Früchte anderer Varietäten. Der Anbau beschränkt sich weitestgehend auf sein Herkunftsgebiet Ecuador. Der Nacional-Kakao zeichnet sich durch sein besonders blumiges Aroma aus (Bartley, 2005, S.341).

2.4.4 Trinitario

Die Trinitarios besitzen sowohl Merkmale der Criollos als auch des Forastero. Diese Gruppe zeichnet sich durch eine, im Vergleich zu den Forasteros, meist höhere Aromaqualität aus. Trinitarios liefern relativ hohe Erträge und besitzen eine höhere Krankheitsresistenz als reine Criollos (Elwers, 2008, S. 46). Sie werden unter anderem im karibischen Raum, in Venezuela, im westlichen Kamerun und auf Java angebaut. Die Fruchtwand ist auch im reifen Zustand hart und enthält dreißig oder mehr Samenkerne (Dand, 1999, S.23).

2.5 Kakaokrankheiten

Der Pilz- und Schädlingsbefall von Kakaopflanzen führt jährlich zu einem geschätzten Ernteverlust von etwa 20% bis 30% (Quellen machen dabei bisweilen sehr unterschiedliche Angaben vgl. hierzu: Hebbar, 2007, S. 1658. Ploetz, 2007, S. 1634. Evans, 2007, S. 1640ff). Die Anfälligkeit der Bäume auf diverse Krankheitserreger auf der einen, und das Alter der Plantagen auf der anderen Seite tragen dazu bei, dass die jährliche Rohkakaoproduktion erheblich beeinträchtigt ist (Hebbar, 2007, S. 1660). Um 1900 wurden rund 80% des Rohkakaos in Mittel- und Südamerika produziert. Seitdem haben sich die Hauptanbauggebiete verschoben. Heute wird der größte Anteil des benötigten Rohkakaos in Westafrika produziert. Dieser Wandel hängt eng mit der Verbreitung aggressiver Pilzpathogene zusammen. Die drei Krankheiten mit den weitreichendsten Folgen in Mittel- und Südamerika sind die Black pod (*Phytophthora palmivora*), Frosty pod (*Moniliophthora roreri*) sowie die Hexenbesenkrankheit (*Moniliophthora perniciosa*; vorher: *Crinipellis perniciosa* genannt) (Ploetz, 2006, S.1636).

Ein gutes Beispiel für die möglichen Auswirkungen einer Pilzkrankheit ist Brasilien. Die Hexenbesenkrankheit ist hier für einen Ernterückgang von 75% verantwortlich. Diese Entwicklung vollzog sich über einen Zeitraum von gerade einmal zehn Jahren (zwischen 1989 bis 1999) und ließ den Gesamtertrag von 400'000 Tonnen jährlich auf nur 100'000 Tonnen sinken (Hebbar, 2007, S.1659).

Kakaoproduzenten werden kaum mit der nötigen Infrastruktur ausgestattet, um qualitativ hochwertige Ware zu produzieren und ihren Bestand vor Schädlingsbefall zu schützen. Meist werden zur Bekämpfung der Pathogene und zum Schutz der Pflanze vor einem möglichen Befall, Fungizide eingesetzt. Oft werden diese jedoch unsachgemäß appliziert, oder die Bäume verfügen über einen zu hohen Wuchs, sodass ein Auftragen der Fungizide verhindert wird. Die Trägerpflanze gibt dann weiterhin Pathogene an ihre Umgebung ab (Hebbar, 2007, S.1659).

Bis heute ist der Gebrauch von Fungiziden, sowie das Entfernen vermeintlich infektiöser Früchte und sonstiger Pflanzenpartien das einzige Mittel der Farmer die Ausbreitung der Krankheiten zu verhindern (Hebbar, 2007, 1660).

Künftig ist die Entwicklung von Genotypen mit Resistenzeigenschaften gegenüber der Pilzpathogene richtungsweisend. Die Hybriden sollen außerdem bessere Erträge liefern, und so den Rohkakaobau in Zentral- und Mittelamerika wieder profitabler machen. Trotz der sozioökonomischen und ökologischen Folgen, die diese

Pilze verursachen sind die Aspekte ihrer Lebenszyklen, wie Ihr Reproduktionsverhalten, nicht restlos geklärt, ebenso wenig wie ihre phylogenetischen Beziehungen (Aime, Phillips-Mora, 2005).

2.5.1 Frosty Pod

Frosty Pod ist eine Pilzkrankheit, die durch den Erreger *Moniliophthora roreri* ausgelöst wird und in vorwiegend neotropischen Gebieten auftritt. *Moniliophthora roreri* ist ein hoch spezialisierter Pilz, der in der Lage ist sich vielfältigen äußeren Einflüssen anzupassen. Der Erreger ist sowohl auf Meeresspiegelebene als auch in einer Höhe von 1520 Metern anzutreffen. Temperaturunterschiede zwischen 18°-28°C kann der Erreger überstehen (Phillips-Mora, Wilkinson, 2007, S.1644 ff). Werden die Kakaofrüchte innerhalb der ersten drei Wachstumsmonate infiziert, sterben sie nur kurze Zeit später ab. Früchte die in späteren Wachstumsphasen mit *Moniliophthora roreri* befallen werden, weisen andere Indikatoren auf. Dies können wasseraufnehmende Defekte, Deformationen, frühzeitiges Reifen, sowie braun eingefärbte Flecken auf der Fruchtschale sein. In fortgeschrittenen Stadien der Infektion erweicht das innere Gewebe der Frucht. Die Samenkerne kleben zu einer kompakten Masse zusammen, welche von einer wässrigen Substanz umgeben sind. Damit sind die Kakaosamen für die Weiterverarbeitung unbrauchbar. Die braunen Verfärbungen werden binnen vier bis fünf Tagen von einem weißen Mycel durchzogen. Mit fortschreitender Reifung wird das Mycel dunkler. Nach etwa drei Monaten sind die Früchte mumifiziert und werden so zur Hauptverbreitungsquelle der infektiösen Erreger. Über sieben Billionen Sporen werden pro infizierter Frucht produziert und nach Ausschüttung durch den Wind auf andere Pflanzen übertragen (Phillips-Mora, Wilkinson, 2007, S.1644 ff). Frosty Pod besitzt eine doppelt so hohe Zerstörungskraft wie die Black Pod (siehe Punkt 2.5.2) und ist weniger kontrollierbar als die Hexenbesenkrankheit (siehe 2.5.3). In betroffenen Anbauländern führt der Befall mitunter zu Ernteverlusten von 80% oder mehr (Phillips-Mora, Wilkinson, 2007, S.1644 ff).

2.5.1.1 Verbreitung der Frosty Pod in Mittel- und Südamerika

Im April 1956 wurde Frosty Pod zum ersten Mal in Panama identifiziert. Wahrscheinlich wurde der Erreger zusammen mit infizierten Früchten aus Kolumbien ins Land gebracht. Obwohl Präventivmaßnahmen ergriffen wurden, um der Wei-

terverbreitung vorzubeugen, sind heute wichtige Anbauggebiete in ganz Mittel- und Südamerika vom Befall durch Frosty Pod betroffen. Innerhalb einer Zeitspanne von fünfzig Jahren hat sich *Moniliophthora roreri* von Panama nach Mexiko, über 3000 Kilometer Luftlinie, verbreitet. Aufgrund der großen Ernteverluste haben viele Farmer auf den Anbau anderer Nutzpflanzen, wie Bananen, umgestellt. Natürliche Barrieren wie Gebirgszüge, konnten die Verbreitung der Frosty Pod im gesamten Mittel- und Südamerikanischen Raum nicht verhindern. Dies lässt darauf schließen, dass primär der Handel mit infiziertem Samengut zu dieser Entwicklung beigetragen hat. Die Unerfahrenheit der Farmer im Umgang mit dem Pathogen trägt außerdem zur rapiden Verbreitung bei (Phillips-Mora, Ortiz, Aime, 2006, S. 3ff).

2.5.1.2 Weiterverbreitung: Präventivmaßnahmen

Um eine Weiterverbreitung des Pathogens in andere Länder und Kontinente zu verhindern, sollten Erzeuger über die Risiken der Verbreitung infizierter Schoten und Samen aufgeklärt und für mögliche Maßnahmen geschult werden (das Entfernen infizierter Früchte und die Beschneidung der umstehenden Flora). Auch der Kakaopreis hat direkten Einfluss auf die Bekämpfung und Eindämmung des Pathogens, da jede Maßnahme im Anbau einen Zuwachs an Arbeitsaufwand und Produktionskosten bedeutet. Präventiv sollte also Aufklärung betrieben werden um auch einer Verbreitung in den internationalen Hauptanbaugebieten von Afrika und Asien vorzubeugen(Phillips-Mora, Wilkinson, 2007, S.1644 ff).

2.5.2 Black Pod

Die Black Pod, oder Schwarzfäule, wird von diversen Pathogenen der Familie *Straminipile*, Gattung *Phytophthora* ausgelöst und führt weltweit zu Verlusten in der Kakaoernte. Werden die Früchte vom Pathogen befallen, bilden sich zunächst kleine, dunkle Defekte auf und/oder in der Frucht. Dies kann während jeder Entwicklungsstufe auftreten. Binnen weniger Tage breitet sich der Pilz auf und in der Frucht aus. Die Schoten schrumpfen und werden mumifiziert. Im Falle von *Phytophthora palmivora* bietet die mumifizierte Frucht nun ein Reservoir für die Pathogene für mindestens drei weitere Jahre. Unter optimalen, humiden Bedingungen kann eine einzige Schote bis zu vier Millionen Sporangien bilden, welche außerdem freibewegliche Pilzsporen enthalten und unter anderem durch den Regen, Ameisen, fliegenden Insekten, Nagetieren, Fledermäusen oder Flughunden weiterverbreitet werden. Die Symptome von *Phytophthora megakarya* sind denen

der *Phytophthora palmivora* sehr ähnlich, treten jedoch binnen kürzester Zeit auf. Die Sporenbildung ist bei *Phytophthora megakarya* ausgeprägter. Beide Pathogene befallen nach und nach die ganze Pflanze, was zum so genannten Kakaokrebs führt. Ist ein Baum infiziert, verringert sich der Ertrag signifikant. Obwohl die Symptome ganzjährig auftreten decken sich die massivsten Ausbrüche mit der Regenzeit. In Gegenwart von Feuchtigkeit geben die Sporangien infektiöse, frei bewegliche Pilzsporen ab. Nach zwanzig bis dreißig Minuten auf der Oberfläche der Pflanze kapseln sich die Sporen ein, keimen aus und durchdringen das Gewebe des Wirts (Guest, 2007).

2.5.2.1 Verbreitung der Black Pod

Erreger der Gattung *Phytophthora* finden weltweit in den Kakaoanbaugebieten Verbreitung. Allerdings unterscheiden sich die verantwortlichen Pathogene je nach geografischer Lage. *Phytophthora capsici* ist in Brasilien, El Salvador, Guatemala, Mexiko, Trinidad und Venezuela für das Auftreten der Black Pod verantwortlich. Der gesamte tropische Raum leidet unter dem Befall mit dem Pathogen *Phytophthora palmivora*. Neben diesen Pathogenen spielen auch *Phytophthora citrophthora* in Brasilien, Indien und Mexiko sowie *Phytophthora megasperma* in Venezuela eine Rolle (Ploetz, 2006, S. 1636).

2.5.2.2 Präventivmaßnahmen: Black Pod

Aufgrund der zerstörerischen Eigenschaften des Pathogens sollten Präventivmaßnahmen ergriffen werden um der weiteren Ausbreitung vorzubeugen. Das Entfernen infizierter Früchte ist Grundvoraussetzung um der Weiterverbreitung vorzubeugen. Samen oder Pflanzmaterial sollte lediglich ausgetauscht werden, wenn es vorab durch eine Quarantänestation auf Unbedenklichkeit geprüft und zugelassen wurde (Guest, 2007, S. 1651).

2.5.3 Hexenbesenkrankheit

Die Hexenbesenkrankheit (engl. „witches broom“) wird von dem Pilz *Moniliophthora perniciosa* verursacht (Griffith, Hedger, 1994, S.278). Der Infektionsprozess wird mit der Auskeimung der Sporen auf infektiösem Pflanzenmaterial eingeleitet. In wasserdampfgesättigter Atmosphäre ist die Auskeimung der Sporen binnen vier Stunden abgeschlossen, die anschließende Penetration des Wirtsgewebes benötigt rund zwei weitere Stunden. Die Sporen wer-

den durch Wind und Wasser weiterverbreitet, dabei sind Entfernungen bis zu 70 Kilometern Luftlinie möglich. Der Lebenszyklus des Hexenbesenpilzes lässt sich, entsprechend zweier Myceliumformen, unterscheiden. Das monokaryotische Primärmycel (biotrophe Phase) breitet sich intrazellulär im parenchymatischen Gewebe aus. Mit dem Absterben des Gewebes bildet sich das dikaryotische Sekundärmycel (nekrotrophe Phase) sowohl inter- als auch intrazellulär aus. Befallene Früchte können nicht mehr verwertet werden und infizierte Blütenpolster können keine Früchte mehr ausbilden (Milz, 2006, S. 14ff). Befallenes Gewebe wuchert nach außen hin aus, es entstehen die namensgebenden „Hexenbesen“ (Scarpari et al., 2004, S. 865). Wird der Befall nicht korrekt behandelt kann ein Baum mit hunderten von „Besenstielen“ bedeckt werden, sodass die Pflanze kaum Früchte austreiben kann oder diese samenlos und erdbeer- oder karottenförmig sind (Aime, Phillips-Mora, 2005).

2.5.3.1 Verbreitung der Hexenbesenkrankheit

Im nördlichen Südamerika ist die Krankheit seit etwa 1895 bekannt und ist seither einer der limitierenden Faktoren des südamerikanischen Kakaoanbaus. Das destruktive Pathogen ist für das Scheitern der Kakaoindustrie in Surinam verantwortlich. Bis 1980 hatte sich der Pilz auch in Kolumbien, Peru und Venezuela verbreitet. Die Rohkakaoproduktion von Brasilien und Bahia verringerte sich um 95% seit dem ersten Auftreten in 1989 (Aime, Phillips-Mora, 2005). Bis heute beschränkt sich das Verbreitungsgebiet der Hexenbesenkrankheit auf Anbaugelände südlich des Panamakanals. Betroffen sind Bolivien, Brasilien, Ecuador, Grenada, Guyana, Kolumbien, Panama, Peru, St. Vincent, Surinam, Trinidad und Tobago sowie Venezuela (Ploetz, 2006, S.1636).

2.5.3.2 Präventivmaßnahmen: Hexenbesenkrankheit

Mögliche kulturelle Maßnahmen hinsichtlich der Kontrolle und Minimierung der Hexenbesenkrankheit sind unter anderem, die genaue Selektion des ausgebrachten Saat- und Pflanzgutes, die Festlegung von Saatzeit, -dichte und – tiefe, sowie die sorgfältige Abstimmung der Erntezeiträume. Befallene Pflanzenteile und Ernterückstände sollten in jedem Fall beseitigt werden (Hoffmann et al., 1985). Der Selektion und Züchtung krankheitsresistenter Kakaokultivare, als Präventivmaßnahme wird zudem eine große Bedeutung beigemessen (vgl. Milz, 2006, S. 22ff).

3 Qualitätsbeurteilung von Rohkakao

3.1 Qualität und Handel

Rohkakao als Handelsware wird an unterschiedlichen Schnittstellen auf seine Qualität hin überprüft: Vor dem Verkauf der fermentierten und getrockneten Ware durch den Farmer. Beim Weiterverkauf an Zwischenhändler, Transporteure oder Lagerhalter und anschließend beim Verarbeiter der Rohware (Schokoladenhersteller, Kakaobutterpresser oder ähnliches). Dabei wird oft auf traditionelle und einfachste Weise die Prüfung durch den so genannten Schnitt- oder Cut-Test durchgeführt. Diese Methode wird im Abschnitt 7.1.1 „Durchführung der Analysen – Der Schnitttest“ ausführlicher beschrieben. Auch weitere Parameter können, je nach Verwendungszweck, von Bedeutung für den Abnehmer sein (wie z. B. der Wassergehalt, Fettgehalt, der Gehalt an freien Fettsäuren, Erstarrungsquotient der enthaltenen Kakaobutter, die Sensorik des Rohprodukts oder das Aromapotentiale). Entsprechend der zuvor gesetzten, vertraglich festgelegten Standards kann dann der Rohkakaopreis verhandelt werden (Rohsius, 2007, S. 20ff). In Trockenmasse enthält der Kakaosamen üblicherweise zwischen 40-60% Fett, 10-15% Proteine, 6% Stärke und 0,9-3,5% Methylxantine. Wobei Theobromin zu 0,9-3,3% vorliegt, und Coffein zu etwa 0,2%. Außerdem sind kleine Mengen an phenolischen Inhaltsstoffen zu erwarten (Rohsius, 2007, S. 7).

3.2 Qualität und Kakao

Unterschiedliche Parameter bestimmen die Gesamtqualität von Rohkakao. So muss genau differenziert werden, welche Parameter zur Bildung von Qualitätsanforderungen mit einbezogen werden. Je nachdem, wie der Rohstoff Kakao genutzt werden soll, werden unterschiedliche Faktoren zum ausschlaggebenden Kriterium. In der Schokoladenherstellung kann das Aromapotentiale wichtig sein. Für die Kakaobuttergewinnung ist der Fettgehalt sowie dessen Zusammensetzung von Interesse. Soll gesundheitsfördernde Schokolade (so genanntes „functional Food“) hergestellt werden, sollten die Anforderungen auf die phenolischen Inhaltsstoffe ausgerichtet sein, da diese im menschlichen Organismus eine gesundheitsfördernde Wirkungen erzielen (Rohsius, 2007, S. 184 und Sies, 2006, S.1ff). Die verschiedenen Qualitätseigenschaften des Rohkakaos werden durch eine Vielzahl von Parametern bestimmt, welche in einem komplexen Wechselwir-

kungsverhältnis stehen. Dieses Wechselwirkungsverhältnis der einzelnen Parameter ist bis heute nicht vollständig erforscht. Daher ist eine eindeutige Qualitätsseinerordnung und Qualitätsbewertung nicht erschöpfend möglich (zitiert nach Rohsius, 2007, S. 184). Nachfolgend werden einige der Qualitätsbeeinflussenden Parameter benannt und erläutert.

3.2.1 Der Kakaosamen

Criollogenotypen weisen im Durchschnitt größere und schwerere Samen auf als der Forastero, zudem sind die Samen oval geformt. Der Forastero verfügt hingegen über flache, längliche und meist dunkel-violett gefärbte Samen. Die Trinitario-kakaosamen können alle Farbschattierungen von weiß bis tiefviolett aufweisen und sind meist größer als die des Forastero. Samenzahl, Samengröße und Samengewicht sind durch den Genotyp bestimmt und unabhängig von der Fruchtgröße (Rohsius, 2007, S.185). Allerdings kann durch die optimale Licht- und Nährstoffzufuhr, Kronenschnitt und Chemikalieneinsatz der Gesamtertrag verbessert werden. Nach ausreichender Düngung kann der Ernteertrag verdoppelt werden, wobei insbesondere die Anzahl der geernteten Früchte pro Baum variiert (Rohsius, 2007, S 8ff).

3.2.2 Das Aroma

Unterschiedliche Genotypen des *Theobroma cacao L.* zeichnen sich in der Regel durch spezifische Aromenoten aus. So wird der Nacional-Kakao als besonders blumig, fruchtig und „spicy“ beschrieben (Cook, Meursing, 1982, S. 15), welches durch höhere Gehalte flüchtiger, aromawirksamer Stoffe (Linalool) zu erklären ist (Ziegleder, 1990). Criollo und Trinitario gelten generell als besonders mild und nussig. Stammt der Trinitario aus Trinidad wird dieser als karamell- und rosinenartig beschrieben (Fowler, 1994). Die aromabezogenen Unterschiede werden, aufgrund von Aroma-Studien, als rein genotypspezifisch eingestuft (Clapperton, 1994).

3.2.3 Fettgehalt und Fettzusammensetzung

Die Parameter Fettgehalt und Fettzusammensetzung schwanken, je nach Anbau-gebiet, zum Teil erheblich. Der Gesamtfettgehalt wird durch den Genotyp bestimmt und liegt bei frischen Samen zwischen 45% und 60% (zitiert nach Rohsius, 2007). Criollos weisen dabei die niedrigsten Gehalte von etwa 53%, und

Forasteros, insbesondere die Upper Amazon Forasteros hohe Gesamtfettanteile von 55-60% auf. Allgemein gilt, dass Samen die schwerer sind als ein Gramm einen höheren Fettgehalt ausweisen als solche die leichter sind. Die Fettsäurezusammensetzung ist dann von der Umgebungstemperatur während des Reifeprozesses abhängig. Rohkakao aus Südostasien und Ozeanien weist meist einen höheren Gehalt an ungesättigten Fettsäuren auf als Kakao aus Südamerika bzw. Brasilien (Rohsius, 2007, S. 186).

3.2.4 Reifbedingte Unterschiede

Der Reifegrad beeinflusst den Fettgehalt, die Fettzusammensetzung, die Anreicherung der Speicherproteine, der Methylxanthine und der phenolischen Substanzen. Die Entwicklung dieser Inhaltsstoffe wird erst in den letzten Wochen der Samenreife beendet. Innerhalb der letzten 10 bis 20 Tage der Fruchtreife wächst der Embryo noch einmal um 60% bis 80% des endgültigen Trockengewichtes (zitiert nach Rohsius, 2007, S. 189). Eine vorzeitige Ernte wirkt sich zudem negativ auf den nachfolgenden Fermentationsprozess aus. Das liegt zum Teil daran, dass sich die Zusammensetzung der Pulpa in der letzten Reifephase stark verändert. Erst in dieser Phase reichern sich Einfachzucker, Zitronensäure und Wasser in der Pulpa an, auch pectinolytisch aktive Enzyme werden erst jetzt aktiviert (Rohsius, 2007, S 189).

3.2.5 Die Methylxanthine

Der Gehalt an Methylxanthinen ist Genotypspezifisch. Gerade Edelkakaosorten, also Criollo und Trinitarios, zeichnen sich meist durch ihre hohen Gehalte an Theobromin und Coffein aus. Dies ist ein Indiz für die Unterscheidung hoch- und minderwertige Rohkakaqualität (Rohsius, 2007, S.185).

4 Aus gewählte Parameter für die Qualitätsanalyse

Um die Qualität der fünf Rohkakaoproben, welche im Rahmen dieser Arbeit untersucht wurden, beurteilen zu können werden physikalische und chemische Analysen durchgeführt. Dies ist zunächst einmal der Cut-Test sowie die Bestimmung des Wassergehalts. Chemisch sollen dann der Fettgehalt, der pH-Wert sowie die organischen Säuren, die Methylxanthine, die freien Aminosäuren und die phenolischen Inhaltsstoffe quantifiziert werden. Die Ergebnisse lassen dann Rückschlüsse auf die Gesamtqualität der Proben zu.

5 Genotypen Forschung – Resistenzeigenschaften gegenüber Pilzpathogenen

Offenbar sind krankheitsresistente, ertragsergiebige Klone der effektivste Weg, den durch Krankheiten hervorgerufenen Schaden einzudämmen (Ploetz, 2006, S.1636). Die Züchtung neuer Kakaogenotypen sollte sowohl den Bedürfnissen der Farmer als auch den Anforderungen der Industrie gerecht werden. In Zentralamerika wird der Kakao meist auf kleinen, isolierten Farmen von einer Größe bis zu fünf Hektar Anbaufläche produziert. Geringe Ernteerträge sind durch den Befall der Pflanzen mit unterschiedlichen Krankheiten sowie der geringen Tragfähigkeit der Bäume zu begründen. Das Hauptproblem ist dabei das Pathogen *Moniliophthora roreri*, welches von Panama bis Mexiko Ernteverluste von 30 bis 100% bedingt. Das Forschungsprojekt der CATIE in Costa Rica konzentriert sich nun auf die Auswahl herausragender Klone und Hybriden, welche sowohl Resistenzen gegenüber dem Frosty Pod Erreger aufweisen als auch hohe Ernteerträge einbringen. Außerdem sollen die ausgewählten Genotypen qualitativ hochwertigen Rohkakao produzieren um hohe Verkaufspreise erzielen zu können (Phillips et al., S. 1ff).

Um mit der Entwicklung geeigneter Kakaokultivare erfolgreich zu sein, müssen die einzelnen Teilschritte in logische Sequenzen unterteilt und nacheinander bearbeitet werden. Das Ziel ist dabei geeignete Genotypen zu generieren und verbessertes Pflanzmaterial an die Farmer weiterzugeben (Griffith, Hedger, 1994, S.1). Während der letzten Jahre wurden folgende Entwicklungsstufen bereits erfolgreich durchlaufen:

1. Entwicklung und Einsatz zuverlässiger, synthetischer Impfmethode um resistente Genotypen gegenüber Frosty Pod und Black Pod zu identifizieren.
2. Gründung/Einführung von Nachkommen- und Klonversuchen mit einer Strategie der wiederholten Selektion.
3. Die Auswahl herausragender Genotypen (begründet auf langjähriger Beobachtung).
4. Umfassende Charakterisierung und Evaluation des ausgewählten Materials unter der Verwendung morpho-physiologischer, phytopathogogischer, agrarwissenschaftlicher, und qualitätsbestimmender- Parameter.

5. Der Aufbau von Versuchsflächen in denen Klone angepflanzt, beobachtet und vermehrt werden (so genannte clonal gardens). Dies soll an unterschiedlichen Standorten, mit unterschiedlichen klimatischen Bedingungen stattfinden.

Die Auswahl geeigneter Klone erfolgte aufgrund von Ernteerträgen und der Toleranz gegenüber dem Frosty Pod-Erreger. Für den Feldversuch wurden folgende Klone ausgewählt: CATIE R-1, CATIE R-4, CATIE R-6, PMCT-58, CC-137 und ICS-95 Type1.

Die Klone CATIE R-6 und CATIE R-4 fielen durch die höchsten Erträge, sowie die kleinsten natürlichen Auftreten von Frosty Pod und Black Pod seit Beginn des Experiments auf. Beide Klone entstanden aus einer Kreuzung von UF-273 Type 1 und PA-169, welche als besonders ergiebig (in Bezug auf den Ernteertrag) und Frosty Pod-resistent identifiziert wurden.

Ein bezeichnender Unterschied der sechs Genotypen ist die Farbe der unausgereiften Früchte. Auch die Reaktion auf Black Pod, unter künstlichen Bedingungen brachte unterschiedliche Ergebnisse. PMCT-58 wurde als einziger Genotyp als hoch resistent eingestuft. Die Klone CATIE R-1 und CATIE R-4 gelten demnach als anfällig und CATIE R-6 sowie CC-137 als moderat resistent. Unter natürlichen Bedingungen waren zuvor alle Klone als resistent eingestuft worden. Das gegenteilige Untersuchungsergebnis kann mit der sehr hohen Konzentration (160000 Sporen/mL) an künstlich eingebrachten Sporen zu erklären sein.

Eine Qualitätsanalyse der Klone, durchgeführt von Guittard Co., stufte CC-137 als Klon mit der schlechtesten und PMCT-58 als Klon mit der besten Qualität ein. In diese Beurteilung wurden die Parameter Fettgehalt, Schnitttest, Aroma, Geschmack und Farbe mit einbezogen (Phillips et al.). Für die Qualitätsanalyse, im Rahmen dieser Arbeit, wurden fünf Proben, von CATIE zur Verfügung gestellt. Im nachfolgenden wird dementsprechend die Rede von CATIE R-1, CATIE R-4, CATIE R-6, PMCT-58 und CC-137 sein.

6 Qualitätsanalysen

Um nun einen Eindruck über die Qualität der Rohkakaoproben zu erhalten, werden sowohl physikalische- als auch chemische- Analysen durchgeführt. So wird

zunächst ein Schnitttest durchgeführt um einen Eindruck über den Fermentationsgrad der einzelnen Proben zu erhalten. Zusätzlich wird das durchschnittliche Bohngewicht bestimmt und in Relation zueinander gesetzt. Der Wassergehalt sowie der Gesamtfettgehalt, als wichtige Parameter für die Kakaoverarbeitende Industrie, werden bestimmt. Anschließend erfolgt die Bestimmung des pH-Werts sowie der organischen Säuren (Milchsäure und Essigsäure). Des Weiteren folgen Analysen mit Hilfe der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC), diese umfassen die Bestimmung von Methylxanthinen (Theobromin und Coffein), freien Aminosäuren, reduzierenden Zuckern und Polyphenolen ((-)-Epicatechin und (+) Catechin). Wobei der Gesamtphenolgehalt noch zusätzlich durch eine Methode am Photometer bestimmt wird und später in Relation zu den Epicatechinwerten gesetzt wird. Grundsätzlich werden Doppelbestimmungen durchgeführt, um grobe Bestimmungsfehler ausschließen zu können.

7 Durchführung der Analysen

7.1 Durchführung physikalischer Analysemethoden

7.1.1 Der Schnitttest (engl. Cut-Test)

Diese Methode wurde 1938 durch das „Office International du Cacao et du Chocolat“ eingeführt und liefert auch heute erste Erkenntnisse über den qualitativen Zustand der Rohware. Dabei werden je 50 Kakaobohnen, mit Hilfe eines Schneidbrettes oder per Hand durchtrennt und die Bohnen gesichtet. Standardmäßig wird dieser Vorgang wiederholt bis die Daten für 300 fermentierte Bohnen erfasst sind. Die Einteilung der Bohnen während der Sichtung erfolgt in die charakteristischen Gruppen: Schiefrig, schiefrig-violett, voll-violett, braun-violett, hellbrechend, schimmelig oder schädlingbefallen. Auch die Anteile an doppelten, gekeimten und flachen Bohnen oder enthaltenen Fremdkörpern werden normalerweise in die Beurteilung mit einbezogen. Die prozentualen Anteile der einzelnen Charakteristika geben dann Aufschluss über den Fermentationsgrad und die Qualität der Rohware (Rohsius, 2007).

7.1.2 Das durchschnittliche Samengewicht

Um das durchschnittliche Samengewicht zu ermitteln werden 100 Kakaosamen einzeln, auf die erste Stelle nach dem Komma genau, ausgewogen und hieraus der Durchschnitt errechnet.

7.1.3 Bestimmung des Wassergehalts

Zur Bestimmung des Wassergehalts wird eine repräsentative Probe zerkleinert bis 98% der Probe eine kleinere Korngröße als 3 mm aufweisen. Nun werden 5,000 g in ein vorgewogenes Wägschälchen eingewogen und anschließend für vier Stunden bei 103°C im Trockenschrank, bis zum Erreichen des konstanten Trockengewichts, getrocknet. Nach der Trocknung werden die Wägschälchen zum Abkühlen in einen Exsikator gegeben und anschließend rückgewogen. Die Gesamtfeuchte kann nun anhand der Auswaage prozentual berechnet werden.

7.2 Durchführung chemischer Analysemethoden

7.2.1 Die Gesamtfettbestimmung

Es werden 2,000 g der geschälten Kakaosamen in eine Kugelmühle eingewogen und anschließend 10 mL n-Hexan zugegeben und für 10 min, bei einer Frequenz von 25/sek, zerkleinert. Jetzt wird die Probe quantitativ in eine Extraktionshülse überführt und mit einem fettfreien Wattebausch abgedeckt. Die Hülse wird in einen Extraktionsapparat eingebracht und für sechs Stunden mit Petrolether extrahiert. Dabei wird der Extrakt in einem vorgewogenen, mit Siedesteinchen versehenen Rundkolben, aufgefangen. Ist der Extraktionsvorgang beendet wird das Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand für 1,5 Stunden in einem Trockenschrank, bis zur Gewichtskonstanz getrocknet (EU Richtlinie 98/64/EG). Durch Rückwiegen kann dann der prozentuale Gesamtfettanteil berechnet werden.

7.2.2 Die pH-Wert Bestimmung

Um den pH-Wert in Rohkakaosamen zu bestimmen werden zunächst 5,000 g der vorbereiteten und zerkleinerten Rohkakaoprobe in ein 100 mL Becherglas eingewogen und anschließend 45 mL destilliertes, siedendes Wasser hinzu gegeben. Nun folgt ein dreiminütiges Rühren mithilfe eines Magnetstäbchens. Anschließend wird die Probe durch einen 595 Einmal-Faltenfilter gegeben und in ein 25 mL Becherglas abfiltriert. Die Filtration wird nach ca. 20 mL gewonnenem Filtrat abgebrochen, und die pH-Messung an einem auf pH 5,0 geeichtem pH-Meter vorgenommen.

7.2.3 Organische Säuren

Zur Analyse von Milch- und Essigsäureanteil werden 2,00 g grob zerkleinerte Kakaobohnen in ein Kugelmühlengefäß mit einer großen Kugel gegeben und mit 10 mL Benzoesäure aufgefüllt. Anschließend wird die Kugelmühle für 10 min, bei einer Frequenz von 25/sek, geschüttelt. Nun werden die Proben in 20 mL Zentrifugengläser überführt und anschließend bei 4100 U/min zentrifugiert. Der Überstand wird in ein Eppi-tube überführt und erneut bei 13000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wird wiederum in 4 mL Kunststoffgefäße abgefüllt.

1 mL des gewonnenen Extraktes wird in eine, mit Methanol und dest. Wasser vor-konditionierte, Ionenaustauschsäule gegeben. Nun folgt die Eluation der organischen Säuren mit zweimaliger Zugabe von 1,8 mL PO_4 -Pufferlösung, welche auf einen pH-Wert von 7,5 eingestellt wurde, in einen 5 mL Messkolben. Nach dem eluieren werden die 5 mL Messkolben mit destilliertem Wasser, bis zur Eichmarke, aufgefüllt.

Zur Kalibrierung wurden Standardlösungen verwendet. Für den Milchsäurestandard wurden 159,88 mg/ 100 mL Lithiumlactat eingewogen. Dies entspricht ~1500 ug/mL Milchsäure. Für den Essigsäurestandard wurden 163,3 mg/100 mL Natriumacetat eingewogen, dies entspricht ~1200 ug/mL Essigsäure (siehe hierzu auch Tabelle 1: HPLC Konditionen). Es folgt nun die Detektion gegen Eichreihe durch die HPLC, sowie die Auswertung der Peakflächen durch die Millenium-Software 3.2 von Waters.

Herstellung der PO_4 -Pufferlösung:

Die Pufferlösung wird hergestellt aus 16,1 mL KH_2PO_4 (0,667mol/L) und 83,9 mL Na_2HPO_4 (0,837 mol/L), welches im Verhältnis 10 zu 100 verdünnt wird.

HPLC Konditionen	
Vorsäule	Micro Guard Cation H Cartridge, Fa. BioRad
Trennsäule	Kationenaustauscher Aminex HPX-87H (300 mm * 7,8 mm)
Laufmittel	Schwefelsäure, c=6,5 mmol/L
Arbeitstemperatur	25°C–27°C, Säulenofen und dazugehörigem Temperaturkontrollmodul, Fa. Waters

Durchflussrate	Etwa 0,6 mL/min.
Aufgabevolumen	20 uL
Probengeber	Autosampler 717plus, Fa. Waters
UV-Detektion	UV-VIS-Detektor L-7420, Fa. Merck Hitachi, bei einer Wellenlänge von 215 nm
Pumpe	HPLC Pumpe 64, Fa. Kauer
Degasser	Degassex DG-4400, Fa. Phenomenex
Quantifikation	Millenium Software 3.2, Fa. Waters
Tabelle 1: HPLC Konditionen zur Bestimmung der organische Säuren	

7.2.4 Theobromin- / Coffeinbestimmung aus Rohkakao

Probenvorbereitung: Für die Analysemethoden zur Ermittlung des Aminosäuregehaltes, der Phenole ((-)-Epicatechin und (+)-Catechin), Purine und Zucker wird entfettetes Kakaopulver benötigt. Dazu werden zunächst die geschälten Kakaosamen für ein bis drei Tage gefriergetrocknet, um die Restfeuchte aus den Samen zu entfernen. Nach der groben Zerkleinerung der Samen erfolgt die Einwaage von 2,00 g und die Addition von 10 mL n-Hexan in einer Kugelmühle, welche mit drei kleinen und drei mittelgroßen Kugeln befüllt ist. Nun werden die Proben für 10 min, bei einer Frequenz von 20/sek, zerkleinert. Des Weiteren folgt die Kaltentfettung mit dreimaligem Überspülen mit Petrolether durch eine Filternutsche. Der so entstandene Filterkuchen wird im Vakuumschrank bei Raumtemperatur und 100 mbar getrocknet und kurz homogenisiert. Die Probe kann nun bis zur Weiterverarbeitung im Kühlschrank gelagert werden.

Zur Bestimmung der Methylxanthine werden 100 mg kalt entfettetes Kakaopulver in einen 50 mL Messkolben eingewogen und mit 40 mL kochendem, destilliertem Wasser versetzt. Nun werden die Messkolben für 30 min in ein siedendes Wasserbad gegeben und gelegentlich umgeschwenkt. Anschließend werden die Messkolben in einem Wasserbad auf 20°C temperiert. Um die Lösung zu klären werden 200 uL zweier Carrezlösungen hinzugegeben und anschließend umgeschwenkt.

Carrez I = $(K_4(Fe(CN)_6) \cdot 3H_2O = 150g/L)$ und

Carrez II = $(ZnSO_4 \cdot 7H_2O = 300g/L)$

Nun wird der Messkolben mit destilliertem Wasser aufgefüllt und anschließend homogenisiert. Die Lösung wird nun durch einen weichen Faltenfilter 595, 5 abfiltriert. Das Filtrat wird desweiteren in ein HPLC-Vial überführt und gegen Eichreihe vermessen. Die verwendeten HPLC Konditionen sind aus Tabelle 2 zu ersehen.

Herstellung der Eichlösungen:

Zur Herstellung der Eichlösung wurden 35 mg Theobromin und 50 mg Coffein in einem 1 L-Messkolben eingewogen und 800 mL dest. Wasser addiert. Die Lösung wird für 10 min aufgekocht und homogenisiert. Nach der Temperierung auf 20°C werden aus der Lösung die Standards A/B/C hergestellt. Dies geschieht in den Anteilen 100%/50%/20% für A, B und C.

HPLC Konditionen	
Trennsäule	Lichropher 60 RP select B (5µm) LiChroCART 250-4, Fa. Merck
Eluationsmittel	Acetonitril/Methanol/Kaliumdihydrogenphosphat In Anteilen zu 7/3/90 %
Arbeitstemperatur	30°C-35°C isokratische Vermessung
Durchflussrate	1 mL/min
Aufgabevolumen	20 µL
Probengeber	AS 2000-Autosampler, Fa. Merck Hitachi
Detektion	Differential-Refraktometer R401, bei einer Wellenlänge von 264 nm
Pumpe	HPLC Pumpe 64, Fa. Knauer
Degasser	Degassex DG-4400, Fa. Phenomenex
Quantifikation	Millenium Software 3.2 (über die Peakfläche), Fa. Waters
Tabelle 2: HPLC Konditionen zur Bestimmung der Methylxanthine	

7.2.5 Aminosäurenbestimmung aus Kakao

Zunächst werden 100 mg entfettetes Kakaopulver in ein 25 mL Zentrifugenglas eingewogen. Nun werden 280 mg Polyvinylpolypyrrolidon (PVPP), 10 mL lichrosoves Wasser und ein kleines Magnetrührstäbchen hinzugegeben. Anschlie-

ßend werden die Proben auf einen pH-Wert von 2,5 eingestellt. Dies geschieht mit Hilfe von Triflouressigsäure. Unter Eiskühlung erfolgt nun die einstündige Extraktion auf einem Magnetrührer. Anschließend werden die Extrakte bei 4100 U/min zentrifugiert. Der klare Probenüberstand wird über einen 0,45 µm Einmalfilter in ein Szintillationsgefäß gegeben und ein aliquoter Teil (30 µL) der Probe mittels Eppendorfpipette in ein HPLC-Probenvial überführt und für eine Stunde gefriergetrocknet (bei -20°C und 0,05 mbar). Zur Vermessung an der HPLC werden 800 µL Boratpuffer auf die gefriergetrockneten Proben gegeben. Mithilfe des Autosamplers werden außerdem 400 µL OPA-Reagenz zugegeben. Zwei min. nach der Derivatisierung mit OPA-Reagenz wird die Probe auf die Säule injiziert. Die Detektion wird durch einen Fluoreszenzdetektor vorgenommen. Die Flächen- sowie Höhenintegration gegen Eichreihe gibt dann Aufschluss über den Gehalt an freien Aminosäuren in den Proben. Die Integration der Peakflächen wird mit Hilfe der Millennium Software 3.2 von Waters durchgeführt. (Siehe hierzu auch: Tabelle 3, HPLC Konditionen zur Bestimmung der freien Aminosäuren).

Benötigte Reagenzien zur Vermessung:

Boratpuffer

Für die Vermessung wird ein Boratpuffer benötigt und hergestellt aus: 12,38 g Borsäure in 800 mL lichrosovem Wasser gelöst, und mit konzentrierter Kaliumhydroxidlösung auf einen pH-Wert von 9,5 eingestellt. Die Lösung wird nun für 5 min. aufgekocht und abschließend mit lichrosovem Wasser auf 1 L Gesamtpuffermenge aufgefüllt.

OPA-Reagenz

Um die OPA-Reagenz herzustellen, werden aus 100 mg Phthaldialdehyd in 2,5 mL Methanol gelöst und 22,4 mL Boratpuffer addiert.

HPLC Konditionen	
Vorsäule	Lichrosphere 100 RP-18 (5 µm)
Trennsäule	LiChroCART 250-4, Fa. Merck
Eluationsmittel	A: 1,6 L Natriumacetatlösung (50 mmol/L, pH 6,2), 50

	mL Methanol (Gradient gerade), 20 mL Tetrahydrofuran (Gradient gerade) B: 200 mL Natriumacetatlösung (50 mmol/L, pH 6,2), 800 mL Methanol (Gradient gerade)		
Arbeitstemperatur	30°C		
Durchflussrate	1,3 mL/min		
Gradientenparameter	Minuten	A in %	B in %
	0	100	0
	2	85	15
	15	70	30
	21	70	30
	40	0	100
	45	0	100
	50	100	0
	55	100	0
Aufgabevolumen	20 uL		
Probengeber	Merck Hitachi, Autosampler AS 4000 A		
Detektion	Floureszenzdetektor F-1050, Fa. Merck Hitachi		
Pumpe	Smartline pump 1000, Fa. Waters		
Degasser	Degaser DG-4400, Fa. Phenomenex		
Quantifikation	Millenium Software 3.2, Fa. Waters		
Tabelle 3: HPLC Konditionen zur Bestimmung der freien Aminosäuren			

7.2.6 Zuckerbestimmung aus Kakao

Zur Bestimmung der reduzierenden Zucker werden zunächst 100 mg kalt entfettetes Kakaopulver in ein 2 mL Eppi-tube eingewogen und mit 1 mL destilliertem Wasser versetzt. Nun erfolgt die Extraktion am Thermocycler bei 80°Celsius für eine Stunde. Anschließend wird für zehn Minuten, bei 1300 U/min zentrifugiert. Jetzt werden 250 uL Überstand in ein neues Eppi-tube abpipettiert, 750uL Acetonitil addiert und anschließend umgeschwenkt. Es erfolgt nun die erneute Zentrifugation für 10 min bei 13000 U/min. Abschließend wird der klare Überstand in ein HPLC-Vial überführt und die isokratische Vermessung der Proben gegen Eichreihe wird durchgeführt (siehe auch: Tabelle 4, HPLC Konditionen zur Be-

stimmung reduzierender Zucker). Die Standardlösungen wurden aus 1,4 mg/mL Fructose, 1,1 mg/mL Glucose, 1,2 mg/mL Saccharose in 75% Acetonitril hergestellt. Dies geschieht in den Konzentrationen 100%/ 50%/ 20%, für die Standards A/B/C.

HPLC Konditionen	
Trennsäule	Hypersil APS-2 (125*4 mm), Fa. Thermo Scientific
Eluationsmittel	Acetonitril/Wasser zu 88/12 %
Arbeitstemperatur	30°C
Durchflussrate	1 mL/min
Aufgabevolumen	20 uL
Probengeber	Autosampler Plus 717, Fa. Waters
Detektion	Differential-Refraktometer R401, Fa. Waters
Pumpe	HPLC Pumpe 64, Fa. Knauer
Degasser	Degasser DG-4400, Fa. Phenomenex
Quantifikation	Millenium Software 3.2
Tabelle 4: HPLC Konditionen zur Bestimmung von reduzierenden Zuckern	

7.2.7 Phenolische Inhaltsstoffe

Für die Bestimmung der Phenole werden zwei Analysemethoden angewandt. Zunächst die Bestimmung des Gesamtphenols mit Folin-Ciocalteusreagenz und die Bestimmung anhand der HPLC mit vorausgehender Mikroextraktion der Proben.

7.2.7.1 Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes mit Folin-Ciocalteus-Reagenz am Photometer

Zur Gesamtphenolbestimmung werden 200 mg kalt entfettetes Kakaopulver in ein 100 mL Zentrifugenglas eingewogen. Anschließend erfolgt die dreimalige Extraktion mittels Magnetrührer bei Eiskühlung für jeweils 15 min, unter Zugabe von 50 mL eines Aceton-Wassergemisches im Verhältnis 60 zu 40. Nach jeder Extraktion erfolgt eine dreiminütige Ultraschallbadbehandlung sowie die Trennung der Probensuspension durch 10 min Zentrifugation bei 4100 U/min. Nach der Zentrifugation wird der Probenüberstand in ein 500 mL Rundkolben gegeben, indem 2 mL konzentrierter Essigsäure vorliegen (dies soll der Oxidation der Phenole vorbeugen). Anschließend wird das Aceton am Rotationsverdampfer, bei 40°C

und 60 mbar Druck, abdestilliert. Nun kann die Probe quantitativ in einen 100 mL Meßkolben überführt und mit destilliertem Wasser aufgefüllt werden.

Für die Bestimmung wird ein aliquoter Teil der Probe abpipettiert und mit 2,5%-Essigsäure verdünnt. Zur Entwicklung des Farbkomplexes wird 1 mL der verdünnten Probelösung in einen 10 mL Meßkolben pipettiert und 0,5 mL Folin-Ciocalteus-Phenolreagenz zugegeben. Anschließend werden 2 mL 20% Natriumchloridlösung hinzugegeben, umgeschwenkt und der Meßkolben mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Um den entstandenen Farbkomplex zu stabilisieren werden die Proben für 10 min in ein 70°C warmes Wasserbad gegeben und anschließend wieder auf 20°C herunter gekühlt. Nun können die Proben photometrisch, bei 730 nm gegen Blindwert und Eichreihe, vermessen werden. Die Eichreihe wurde auf Epicatechinbasis hergestellt und liegt in den Konzentrationen 20; 40; 60; 80; 100 und 140 ug/mL vor, außerdem wird ein Blindwert mit der Konzentration von 0 ug/mL vermessen.

7.2.7.2 Bestimmung der Polyphenole mit der HPLC

100 mg entfettetes und homogenisiertes Kakaopulver werden in ein Zentrifugenglas eingewogen, 5 mL Methanol addiert und für 20-30 sek (mithilfe des Rührers Ultraturrax T25) extrahiert. Die extrahierte Probe wird nun drei Minuten ultraschallbehandelt und anschließend für 15 min im Eisbad gelagert. Nun wird die Probe für zehn Minuten, bei 4100 U/min zentrifugiert. Der methanolische Überstand wird in einen 50 mL Spitzkolben abdekantiert. Der Extraktionsvorgang wird insgesamt dreimal wiederholt, mit nur zweiminütiger Eisbadbehandlung. Die vereinigten Methanolextrakte werden am Rotationsverdampfer bei 40°C und 100 mbar bis zur Trockene eingeengt und in 3 mL Methanol lichrosov aufgenommen. Nach abschließender Filtration durch einen 0,45 um-Einmalfilter wird die Probe gegen Eichreihe (käuflich erwerbbar Standards für Protocatechinsäure, (+)-Catechin und (-)-Epicatechin) an der HPLC vermessen (siehe hierzu auch Tabelle 5).

HPLC Konditionen	
Trennsäule	LiChroCART 250-4 [Lichrospher 100 RP-18 (5 um)], Fa. Merck

Eluationsmittel	A: Essigsäurelösung B: Acetonitril, Wasser (lichrosov), Eisessig in den Konzentrationen (400/90/10)		
Arbeitstemperatur	26°C		
Durchflussrate	1,2 mL/min		
Gradientenparameter	Zeit in Minuten	A in %	B in %
	0	90	10
	8	90	10
	38	77	23
	41	10	90
	44	10	90
	49	90	10
	60	90	10
Aufgabevolumen	20 uL		
Probengeber	Autosampler AS 2000, Fa. Merck Hitachi		
Detektion	PhotoDiodenArrayDetector 996 (PDAD), Spektrum 230-540 nm, Fa. Waters		
Pumpe	Smartline pump 1000, Fa. Knauer		
Degasser	4 Kanal Degaser, Fa. Phenomenex		
Quantifikation	Millenium Software 3.2		

Tabelle 5: HPLC Konditionen, Bestimmung der Polyphenole

8 Beschreibung und Auswertung der Ergebnisse

8.1 Physikalische Methoden

Die Überprüfung der Fermentationsstadien durch den Schnitttest und die olfaktorische Beurteilung lässt schnell die Unterschiede der Proben deutlich werden. Die Abbildungen 2-4 zeigen Beispiele unterschiedlichster Schnittbilder. Abbildung 2 und 3 zeigen dabei minderwertige Kakaobohnenqualitäten, in Form schiefrieger-, violetter- und schimmlicher- Bohnen. Ein solches Schnittbild ist ein Hinweis darauf, dass die Bohnen eine lediglich unzureichende Nacherntebehandlung (Fermentation und Trocknung) durchlaufen haben. Abbildung 4 ist dann ein Beispiel für gut

fermentierte Bohnen (braunbrechend), wobei hellbrechende Bohnen in der Regel nur unter Edelkakaosorten zu finden sind.



Abbildung 2: Beispiel für schiefrige, schiefrig violette- und vollviolette- Kakaobohne



Abbildung 3: Beispiel für schimmelbefallene Kakaobohnen



Abbildung 4: Beispiel für braun- und hellbrechende- Kakaobohne

Quelle, Abbildung 2, 3 und 4: Rohsius, 2007, S. 42f

Zur Beurteilung des Schnittbilds, wurden jeweils 250 Bohnen je Probe geschnitten und gesichtet. Da nur je 400 g Probenmaterial zur Verfügung standen musste vom Standard, der Sichtung von 300 Bohnen abgewichen werden. Die nachfolgenden Abbildungen (Abbildung 5 bis 9) der Proben erheben dabei nicht den Anspruch, den beschriebenen Anteilen zu entsprechen. Die Abbildungen sollen dabei helfen einen visuellen Eindruck der einzelnen Proben zu erhalten und die wesentlichen qualitativen Unterschiede zu erfassen.

8.1.1 Schnittbild CATIE R-1

Die Schale der Bohnen ist matt und fühlt sich leicht feucht an. Das olfaktorische Aroma ist eher schwach. Das durchschnittliche Einzelbohnenengewicht liegt bei 1,25g. Der Schnitttest von CATIE R-1 zeigt einen Anteil von 62% braunbrechender Bohnen (Abbildung 5).



Abbildung 5: Schnittbild CATIE R-1

8.1.2 Schnittbild CATIE R-4

Die Schale von CATIE R-4 ist matt und verströmt ein insgesamt kräftigeres Aroma als alle anderen Proben. Das durchschnittliche Einzelbohnenengewicht liegt bei 1,3 g. Der Schnitttest zeigt 61% braunbrechende Bohnen. 34% der Gesamtprobe sind braun- (25%) oder vollviolett (9%). Dies lässt den Rückschluss zu, dass der Fermentationsprozess etwas verfrüht unterbrochen und die Probe zur Trocknung überführt wurde (siehe hierzu auch Abbildung 6).



Abbildung 6: Schnittbild CATIE R-4

8.1.3 Schnittbild CATIE R-6

Die Schale von CATIE R-6 ist matt, dick und leicht gräulich gefärbt. Sie gehört zu den vier Proben, welche ein eher schwaches Aroma verströmen. Das durchschnittliche Einzelbohnenengewicht liegt bei 1,35 g. Der Schnitttest zeigt ebenfalls vorwiegend braunbrechende Bohnen (64%). Auch hier ist der Rest der Probe vorwiegend als braun- (23%) und vollviolett (9%) einzustufen (siehe Abbildung 7).



Abbildung 7: Schnittbild CATIE R-6

8.1.4 Schnittbild PMCT-58

Die Schale von PMCT-58 ist matt, dünn und sehr leicht ablösbar. Das Aroma ist schwach. Die Probe verfügt über das geringste durchschnittliche Einzelbohnen-gewicht, welches bei 1,15g liegt. Der Schnitttest zeigt 55% braun- und 27% braun-violett- sowie 18% vollviolett-brechende Bohnen (siehe auch Abbildung 8). PMCT-58 ist die einzige Probe in der keinerlei Schimmel- oder Schädlingsbefall vorliegt, auch schiefrige Bohnen wurden nicht gefunden.



Abbildung 8: Schnittbild PMCT-58

8.1.5 Schnittbild CC-137

Die Schale von CC-137 ist matt, dick und leicht vom Samen zu lösen. Das Aroma ist schwach ausgeprägt. Das durchschnittliche Einzelbohnenengewicht liegt bei 2 g und ist damit der höchste Wert. Innerhalb dieser Probe machen braun- und vollviolett-brechende Bohnen einen Anteil von 63% aus. Auch 3,5% schiefrig-violett und schiefrige Bohnen sind vorhanden. Damit sind maximal 33,5% der Gesamtprobe vollständig fermentiert (siehe hierzu auch Abbildung 9). Schädlingsbefall oder Schimmelbildung konnte allerdings nicht nachgewiesen werden. Der hohe Grad an unfermentierten Bohnen ist vermutlich damit zu begründen, dass die verhältnismäßig großen Bohnen eine größere Zeitspanne benötigen um vollständig zu fermentieren als die durchschnittlich kleineren Bohnen.



Abbildung 9: Schnittbild CC-137

8.1.6 Zusammenfassung, Auswertung Schnitttest

Bis auf CATIE R-4 sind die Proben olfaktorisch nur wenig aromatisch. Sie alle besitzen eine matte Schale. Das durchschnittliche Einzelbohngewicht reicht von 1,15 g für PMCT-58 bis zu 2,0 g für CC-137.

Es sind kaum schiefrige (unfermentierte), schimmelige oder schädlingsbefallene Bohnen vorhanden. Dies sind Indikatoren dafür, dass die ersten Fermentationsstadien zum großen Teil durchlaufen wurden. Der Gesamtwassergehalt aller Proben liegt unter 8%, sodass damit der Schimmelbildung vorgebeugt wurde. Es gibt jedoch Unterschiede im Fermentationsgrad der Bohnen. Hierbei fällt CC-137 durch den großen Anteil an vollvioletten und braunvioletten Bohnen besonders auf. Insgesamt machen diese Bohnen etwa 60% der Gesamtprobe aus, was vermuten lässt, dass diese Bohnen zu früh in den Trocknungsprozess überführt wurden, der Fermentationsprozess somit nicht abgeschlossen ist. Doch auch die vier anderen Proben weisen einen Anteil von etwa 30-40% an voll- und braunvioletten Bohnen auf. Demnach wäre eine Optimierung der Nacherntebehandlung ratsam, um eine möglichst heterogene Qualität der Proben gewährleisten zu können.

8.2 Der Wassergehalt

Die bestimmten Werte für die Gesamtfeuchte liegen bei durchgängig niedrigen Werten zwischen 5,5% (PMCT-58) und 6,9% (CATIE R-1). Damit erfüllen sie den Qualitätsstandard von maximal 8% Gesamtwassergehalt vollkommen. Grundsätzlich gilt: Je mehr Wasser in einer Probe enthalten ist, desto besser die Lebensgrundlage für Schimmelpilze und damit einhergehend, auch die Entstehung von Mycotoxinen. Der Schimmelbildung ist, durch ausreichende Trocknung und trockene Lagerung der Rohware, vorzubeugen.

8.3 Auswertung Chemische Analysen

8.3.1 Gesamtfettanteil

Der Schmelzpunkt von Kakaobutter variiert zwischen 34°-38°C und richtet sich nach der Zusammensetzung der enthaltenen Fettsäuren. Die Zusammensetzung der Kakaobutter ist genetisch bedingt, wird aber zudem von klimatischen Einflüssen während der Reifung beeinflusst. Generell kann gesagt werden, dass eine höhere durchschnittliche Umgebungstemperatur zu höheren Schmelzpunkten der, in den Kernen enthaltenen, Kakaobutter führt. Kakaobutter besteht zu 57-64% aus

gesättigten, und zu 36-43% aus ungesättigten Fettsäuren (Cocoa Atlas, 2010, S. 29f).

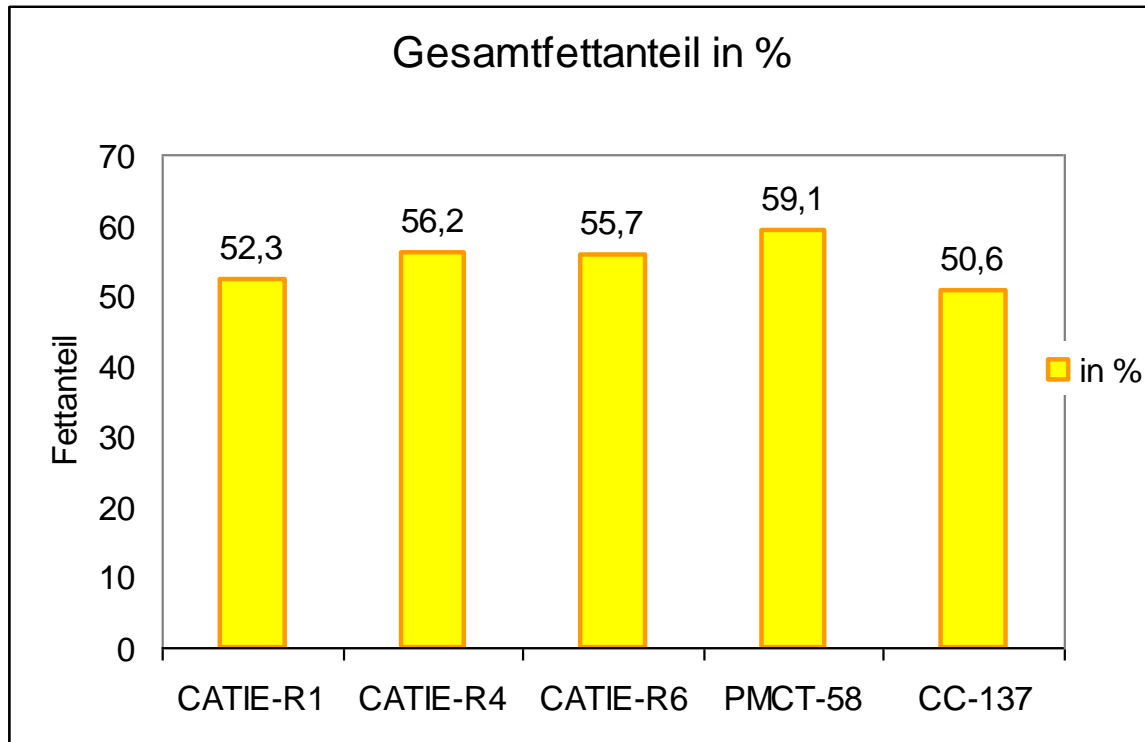


Abbildung 10: Gesamtfettanteil der Proben im Vergleich

Der Gesamtfettgehalt der Proben liegt zwischen 50,6% für PMCT-58 und 59,1% für CC-137 (siehe hierzu auch Abbildung 10). Kakaobutter ist grundsätzlich der teuerste Rohstoff in der Schokoladenherstellung, daher sind hohe Fettgehalte wünschenswert. Sorten mit einem besonders hohen Fettgehalt sind demnach besonders beliebt in kakaobutterverarbeitenden Betrieben.

Auffällig sind die Abweichungen zur bereits angegebenen Analyse (siehe Abschnitt „Genotypen Forschung – Resistenzeigenschaften gegenüber Pilzpathogenen“) von „Guittard Co.“ Hier werden Gesamtfettanteile zwischen 54% und 60% angegeben. Die Werte der Analysen, von „Guittard Co.“ zu den eigenständig durchgeführten Analysen, weisen eine Differenz von bis zu 5% auf. Dies kann durch die Probeentnahme unterschiedlicher Erntejahre zu erklären sein. Beide Analyseergebnisse lassen jedoch erkennen, dass der Gesamtfettanteil eher überdurchschnittlich hoch ist und sie somit interessant für die verarbeitende Industrie sein könnten. Über den Gesamtfettgehalt hinaus wäre es interessant die genaue Zusammensetzung des Fettes zu bestimmen, um die Wertigkeit des Fettes detaillierter beurteilen zu können. Insbesondere der Gehalt an freien Fettsäuren ist von

Bedeutung. Übersteigt der Gehalt 1,75%, so ist die Ware in der EU nicht zulässig. Besonders Proben mit hohem Schimmelanteil und/oder Insektenbefall weisen häufig hohe Werte an freien Fettsäuren auf (Cocoa Atlas 2010).

8.3.2 Der pH-Wert und die organischen Säuren

Die pH-Werte liegen zwischen 5 und 5,7 und damit alle im sauren Bereich, vergleiche hierzu auch Tabelle 6.

pH-Werte				
CATIE R-1	CATIE R-4	CATIE R-6	PMCT-58	CC-137
5,0	5,2	5,1	5,5	5,7
Tabelle 6: pH-Werte				

Der pH-Wert sollte als Qualitätsmerkmal auch immer in Zusammenhang mit anderen Parametern wie den Anteilen an Milch-/Essigsäure oder der Fermentationsgrad gesehen werden. Aufgrund der säurebedingten Prozesse während der Fermentation sinkt der pH-Wert auf 4,5-5 (von einem pH-Wert von 6 für frische, unfermentierte Samen). Nachdem der Samen abgestorben ist und die Speicherproteine degeneriert sind, steigt der pH-Wert erneut an. Dauert der Fermentationsprozess übermäßig lange, können die Samen anschließend einen pH-Wert von 8 aufweisen (Cocoa Atlas, 2010, S. 27).

Während der anaeroben Fermentationsphase wird, von Hefen und Milchsäurebakterien, Milchsäure gebildet. In der anschließenden aeroben Phase bilden Essigsäurebakterien außerdem Essigsäure (Rohsius, 2007, S. 15ff). Essigsäure ist leicht flüchtig und verdampft zu einem großen Teil während der Trocknung (solange die Trocknung richtig durchgeführt wird). Die Milchsäure hingegen verbleibt fast vollständig im Samen. Ist der Milchsäureanteil also besonders hoch wirkt sich das negativ auf die Kakaoqualität aus (Cocoa Atlas, 2010, S. 33).

Ein hoher Gehalt an Essigsäure lässt zum einen Rückschlüsse auf die Herkunft einer Probe zu. So sind hohe Essigsäuregehalte typisch für Südostasien, wo das Fruchtmusvolumen und damit die Zuckergehalte besonders hoch sind, was wahrscheinlich die Bildung von Essigsäure begünstigt (Cocoa Atlas 2010). Zum anderen lässt ein hoher Essigsäuregehalt den Rückschluss auf einen schnellen Trocknungsvorgang zu. Wird eine schnelle und heiße Trocknung durchgeführt, verdichtet sich die Testa des Samens zur festen Außenhülle und allein Wassermoleküle

können noch nach außen diffundieren. Die Essigsäure verbleibt bei einem solchen Vorgang zu großen Teilen im Kakaosamen (Nganhou, 2003, S. 797ff). Nach Fincke sind Essigsäuregehalte von 0,2% in der Trockenmasse optimal (Fincke, 1965, S. 60). Ist die Essigsäurekonzentration zu hoch wirkt sich dies negativ auf das Kakaoaroma aus (Biehl, Brunner, Passern, 1985, S. 596).

Milchsäure ist, im Gegensatz zu Essigsäure, weniger leicht flüchtig und verbleibt zu einem großen Teil auch während weiteren Verarbeitungsprozessen (z.B. in der Schokoladenherstellung) im Produkt. Hohe Milchsäureanteile wirken sich demnach negativ auf die Gesamtqualität des Rohkakaos aus (Cocoa Atlas 2010).

Milchsäure entsteht hauptsächlich während der ersten Phase der Fermentation. Je intensiver diese Phase durchlaufen wird, desto größer ist auch der Milchsäureanteil im Rohkakao (Rohsius, 2007, S. 192).

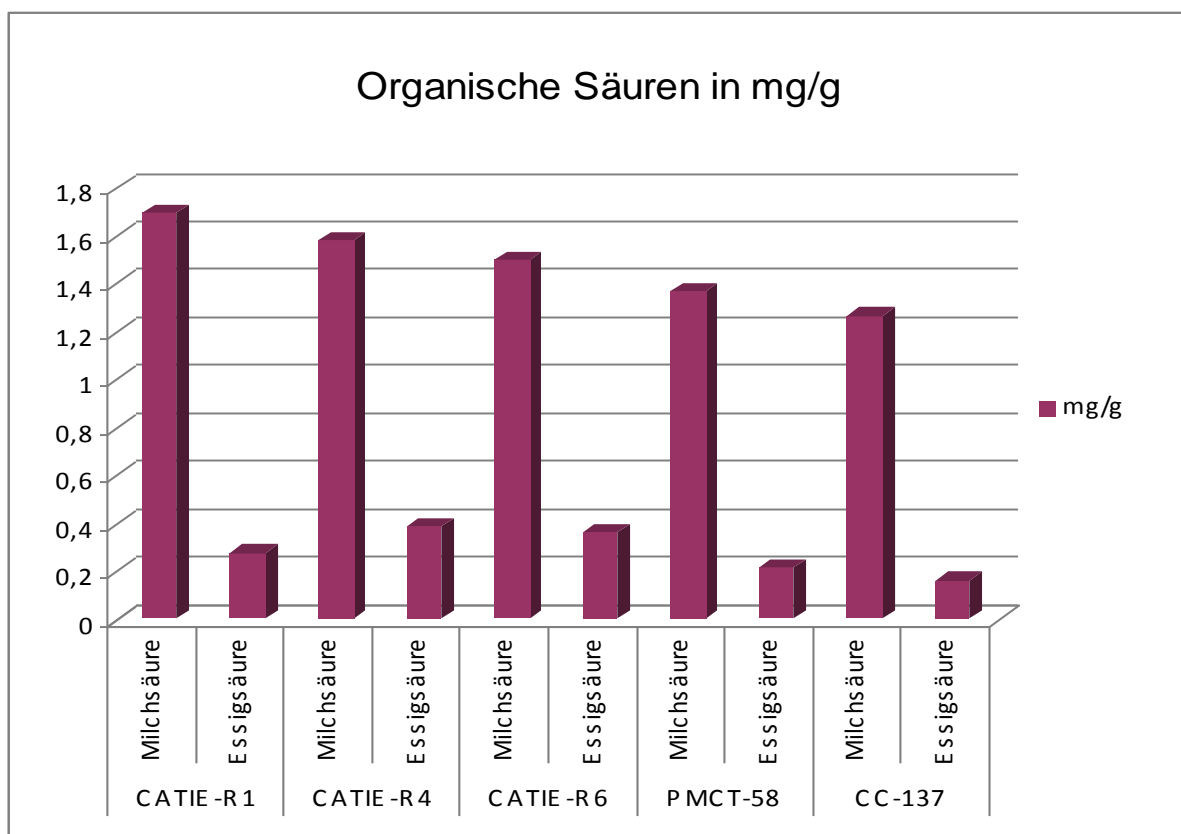


Abbildung 11: Milch und Essigsäuregehalte der Proben im Vergleich

Die gemessenen Werte für Essig- und Milchsäuregehalte beziehen sich auf mg/g geschälter Kakaosamen. Die Werte für die enthaltene Essigsäure liegen zwischen 0,07 mg/g fTM für CC-137 und 0,146 mg/g fTM für CATIE R-4. Demnach bewe-

gen sich alle gemessenen Werte im optimalen Bereich. Genaue Angaben, was im Allgemeinen als ein optimaler- bzw. hoher Gehalt an Milchsäure verstanden wird, konnten in der Literatur nicht gefunden werden. Die Werte bewegen sich zwischen 0,480 mg/g ffTM für PMCT-58 und 0,691 mg/g ffTM. Die Werte für Essig- und Milchsäure in fettfreier Trockenmasse wurden abzüglich der vorher bestimmten Werte für Wasser- und Fettgehalt berechnet, da sich die wenigen Angaben in der Literatur auf diese Werte beziehen (vgl. Rohsius, 2007, S. 189ff und Fincke, 1985, S. 59f).

8.3.3 Die Methylxanthine

Coffein und Theobromin gehören zusammen mit Theophyllin zu der Gruppe der Methylxanthine. Xanthin besteht aus einem Ring mit sechs Kohlenstoffatomen und einem Ring mit fünf Kohlenstoffatomen, welche jeweils mit zwei Stickstoffatomen versehen sind. Unter Abspaltung einer Methylgruppe des Coffeins ($C_8H_{10}N_4O_2$) (OMIKORN GmbH, 2000, Stand 21.02.2011) entsteht Theobromin ($C_7H_8N_4O_2$) (Schaarschmidt, 2008, S. 57). In Rohkakao sind Coffein und Theobromin zu Anteilen zwischen 0,05-0,3% und 0,9-3% vorhanden. Im menschlichen Organismus wirken Theobromin und Coffein harntreibend und stimmungsaufhellend (Schaarschmidt, 2008, S. 27).

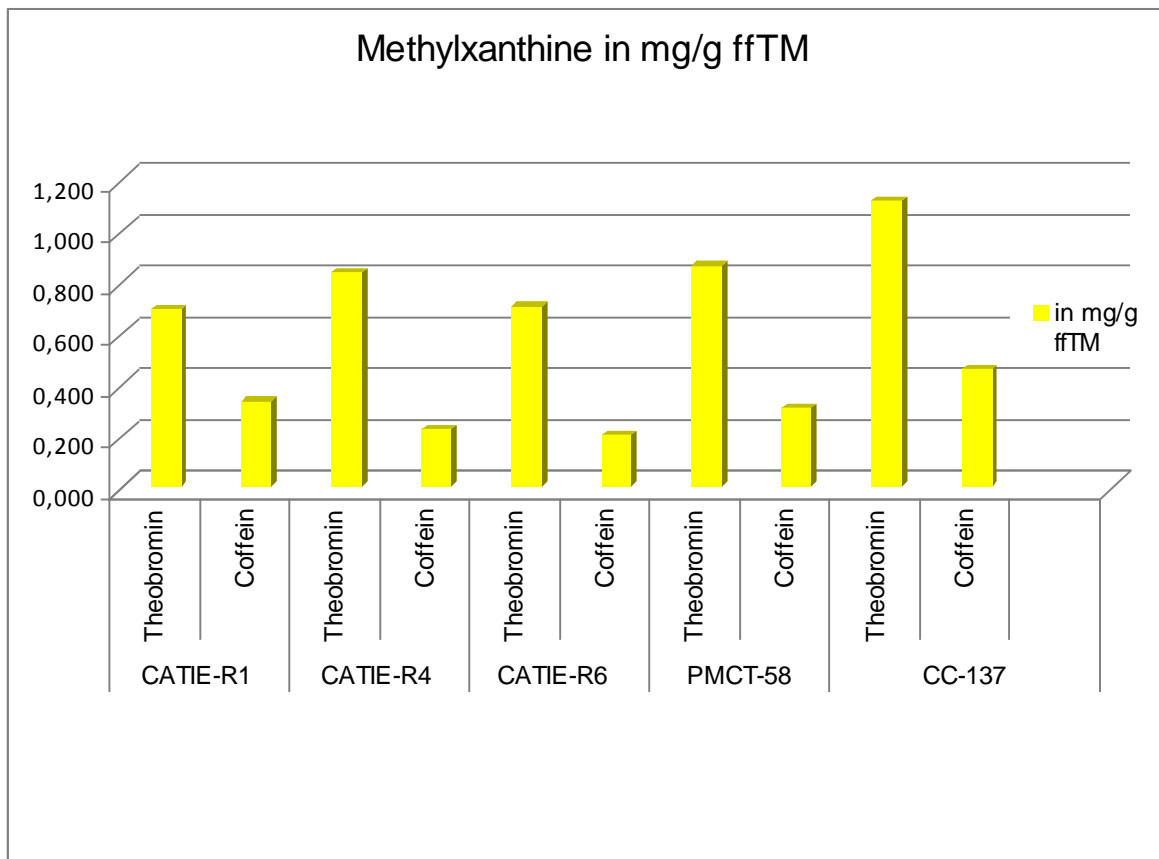


Abbildung 12: Theobromin- und Coffeingehalte der Proben im Vergleich

Probe CC-137 weist maximale Werte von 1,116mg/g ffTM Theobromin und 0,456 mg/g ffTM Coffein auf. Die (zusammengenommen) niedrigsten Werte weist CATIE R-6 auf, mit 0,703 mg/g ffTM Theobromin und 0,199 mg/g ffTM Coffein in (Abbildung 12).

Theobromin – Coffeinquotient (T/C)				
CATIE R-1	CATIE R-4	CATIE R-6	PMCT-58	CC-137
2,1	2,7	3,5	2,8	2,4

Tabelle 7: Quotient aus Theobromin- und Coffeingehalten

Der Quotient aus Theobromin und Coffein ist ein Indikator zur Unterscheidung von Massen- und Edelkakao. Das Verhältnis wird demnach hauptsächlich durch genetische- und geografische Varietät bestimmt (Cocoa Atlas 2010). Edelkakaosorten weisen grundsätzlich einen niedrigeren Quotienten auf als andere Sorten. Liegt das Verhältnis von Theobromin zu Coffein unter einem Wert von 8 und weist die

Probe gleichzeitig einen hohen Coffeingehalt von mehr als 3 mg/g ffTM auf ist es wahrscheinlich, dass es sich um eine Edelkakaosorte handelt. Die untersuchten Proben weisen alle einen Quotienten unter 4 auf (Tabelle 8), und sind demnach als qualitativ hochwertig einzustufen (Rohsius, 2007, S. 89ff).

8.3.4 Gesamtgehalt an freien Aminosäuren und reduzierenden Zuckern

Aufgrund der Degeneration von Speicherproteinen während der Fermentation steigt der Anteil an freien Aminosäuren. Zu Beginn der Fermentation steigen zunächst die Werte für saure Aminosäuren stark an. Später ist ein Anstieg der hydrophoben Aminosäuren zu beobachten. So sind geringe Gehalte an freien Aminosäuren ein Indikator für unzureichend fermentierte Proben (Cocoa Atlas 2010). Die, im fermentierten Kakaosamen enthaltenen, freien Aminosäuren sind zusammen mit den reduzierenden Zuckern verantwortlich für die Bildung des typischen Kakaoaromas. Während der Röstung reagieren sie in einer Maillard-Reaktion miteinander. Die Proteolyse hängt eng mit dem Ansäuerungsprozess der Bohne zusammen, so ist das Aromapotential von Bohnen mit einem pH-Wert von 5 größer als das von Bohnen mit einem pH-Wert von 4 (Voigt, 1993, S. 177).

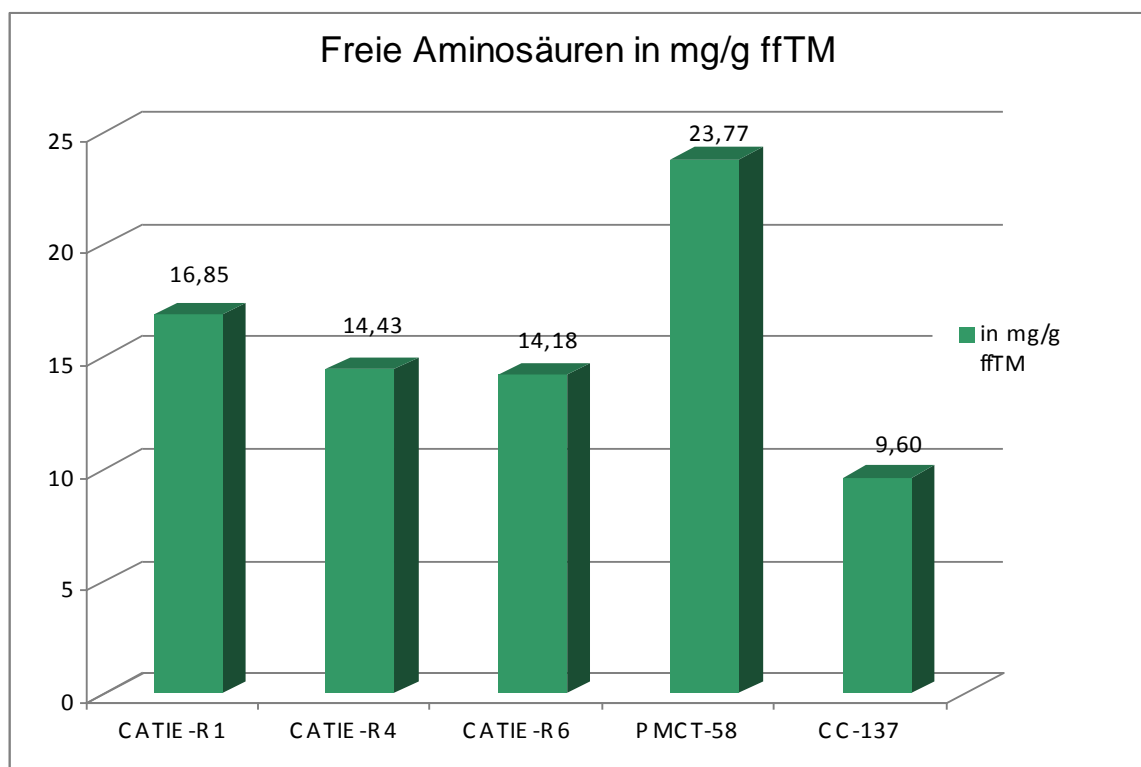


Abbildung 13: Vergleich der Gehalte an freien Aminosäuren

Die Probe PMCT-58 zeigt im Vergleich zu den anderen Proben einen besonders hohen Gesamtgehalt an freien Aminosäuren 23,77 mg/g ffTM, siehe Abbildung 13. Dies lässt auf ein besonders hohes Aromapotential schließen. CC-137 weist mit 9,60 mg/g ffTM den geringsten Gehalt an freien Aminosäuren auf. Zur Ausbildung des typischen Kakaoaromas werden, neben den Aminosäuren auch reduzierende Zucker benötigt (Cocoa Atlas 2010).

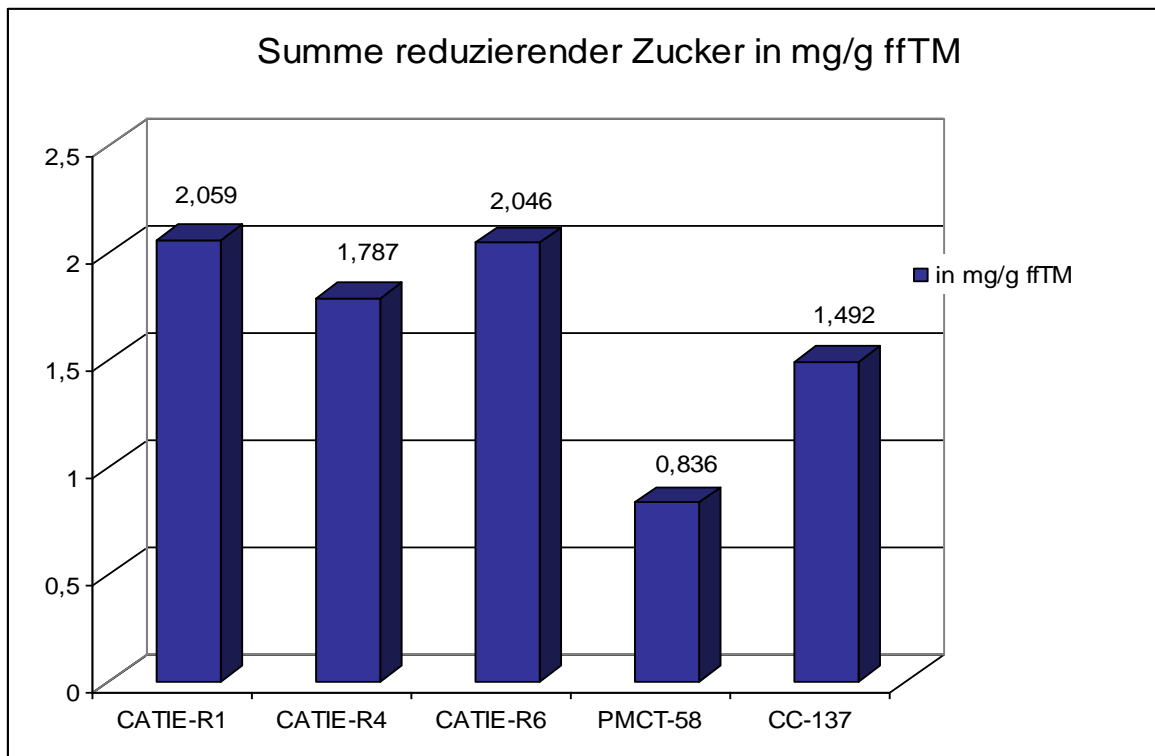


Abbildung 14: Gesamtgehalt reduzierender Zucker im Vergleich

Die Summe der reduzierenden Zucker zeigt hohe Anteile für CATIE R-1 und CATIE-R-6 mit etwa 2 mg/g ffTM (siehe Abbildung 14). Dies bietet eine gute Grundlage für die Entwicklung von Aromavorstufen bei der Röstung der Bohnen. Für PMCT-58 stehen wahrscheinlich nicht ausreichend reduzierende Zucker zur Verfügung um das Aromapotential, aufgrund des hohen Anteils an freien Aminosäuren, voll ausschöpfen zu können. Das Gleiche gilt, im umgekehrten Sinne für CC-137, wo zu wenig freie Aminosäuren und ausreichend reduzierende Zucker vorliegen. Demnach sind die Proben CATIE R-1 und CATIE R-6 positiver zu bewerten als PMCT-58 und CC-137. CATIE R-4 verfügt über einen etwas geringeren Gesamtgehalt an reduzierenden Zuckern, das Verhältnis zu den freien Aminosäu-

ren ist aber gut ausgeglichen. Es ist wahrscheinlich, dass auch diese Probe nach der Röstung, gute Aromavorstufen aufweisen wird.

8.3.5 Der Polyphenolgehalt

In Kakao enthaltene Phenole gehören hauptsächlich zur Stoffgruppe der Flavan-3-ole und liegen meist als Oligomere des (-)-Epicatechins vor. Ein großer Teil liegt dabei als Monomer (-)-Epicatechin und dem Isomer (+)-Catechin vor (Sies, 2006, S. 3). Während der Fermentation und der Trocknung des Rohkakao gehen bis zu 95% der phenolischen Inhaltsstoffe verloren (Cocoa Atlas 2010). Die phenolischen Inhaltsstoffe sind wichtige Bestandteile für Hersteller des so genannten „functional food“, sie verfügen über antioxidative Gruppen und sollen so präventiv gegen Arteriosklerose, Herzinfarkt oder entzündliche Prozesse im menschlichen Körper wirksam sein (Elwers, 2008, S. 2). Anteile von 12-18% in der fettfreien Trockenmasse sind normal. Die phenolischen Inhaltsstoffe sind außerdem für den sensorischen Gesamteindruck mitverantwortlich, da sie hauptsächlich für die Bitterkeit und Adstringenz des Rohkakao verantwortlich sind (Elwers, 2008, S. 1). Sind zu viele Polyphenole im Rohkakao enthalten, kann das Gesamtaroma darunter leiden (Cocoa Atlas, 2010).

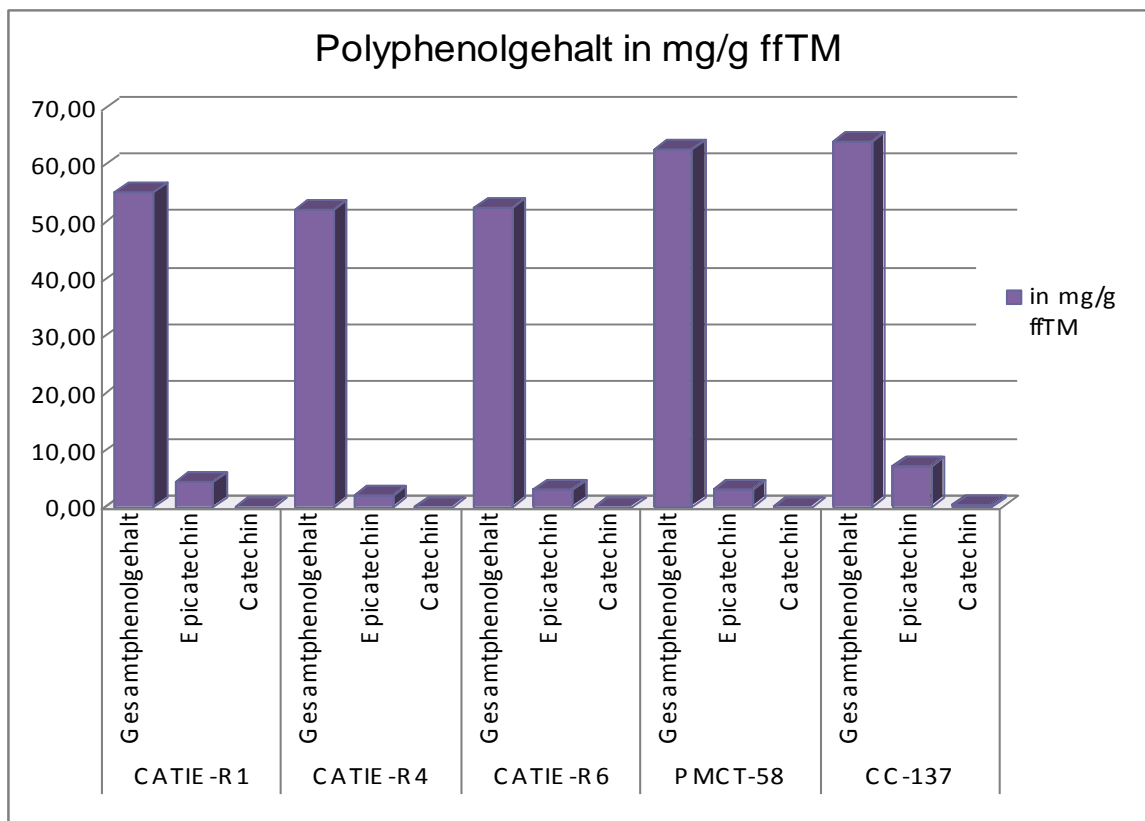


Abbildung 15: Gesamtphenolgehalt, (-)-Epicatechin und (+)-Catechin im Vergleich

Mithilfe des Photometers wurden Gesamtphenolgehalte zwischen 52,13 mg/g ffTM in CATIE R-4 und 64,2 mg/g ffTM in CC-137 gemessen. (-)-Epicatechin- und (+)-Catechin wurden anschließend mithilfe der HPLC detektiert. Demnach macht der Epicatechingehalt zwischen 1,13% und 4,83% des Gesamtphenolgehaltes in den Proben aus (Abbildung 15). (+)-Catechin konnte lediglich in den Proben CATIE R-1 (0,156 mg/g ffTM) und CC-137 (0,327 mg/g ffTM) detektiert werden. Die Polyphenolgehalte für CC-137 übersteigen demnach die der anderen.

8.4 Zusammenfassung der Analysen

Die Ergebnisse machen deutlich, dass es sich bei den Proben um hochwertigen Rohkakao handelt. Insgesamt verfügen die Proben über einen überdurchschnittlichen Gesamtfettanteil, was positiv zu bewerten ist. Auch der pH- Wert liegt im optimalen Bereich für fermentierte, getrocknete Bohnen um einen Wert von etwa 5,5 (Fincke, 1965, S.59). Der Quotient aus Theobromin und Coffein liegt, für CATIE R-4 bei einem Maximalwert von 3,7 und ist demnach den Eigenschaften eines Edelkakaos ähnlich (Rohsius, 2007, S. 89ff). Die Werte für die enthaltenen freien Aminosäuren und reduzierender Zucker, schwanken zwischen den Proben zum Teil erheblich. Für die ermittelten Ergebnisse gilt, je mehr reduzierende Zucker enthalten sind desto größer ist das Aromapotential. Das Aromapotential kann sich allerdings erst nach großer Hitzeeinwirkung entfalten, es reagieren dann reduzierende Zucker mit Aminosäuren in der so genannten Maillard-Reaktion. Der Polyphenolgehalt liegt zwischen 5,2% und 6,4% und ist damit als eher gering einzuschätzen (Elwers, 2008, S. 1). Die Optimierung der Nachernteprozesse könnte sich auch positiv auf den Polyphenolanteil auswirken.

Allgemein konnte festgestellt werden, dass die meisten qualitativen Einbußen mit durch falsche Nacherntebehandlung bedingt sind. An dieser Stelle sollte man ansetzen und die Fermentation sowie die Trocknung optimieren. Dementsprechend sollte die Fermentationszeit, der Bohnengröße entsprechend, verlängert werden. Es sollten stets nur die Bohnen gemeinsam fermentiert werden, die in etwa die gleiche Bohnengröße aufweisen, um schlussendlich eine homogene Qualität zu erhalten. Diese Maßnahme würde zu einer Minderung der Anteile an schiefrigen, schiefrig-violetten, violetten, und violett-braunen Bohnen führen und wahrschein-

lich auch eine Änderung der Gehalte an organischen Säuren und Polyphenole mit sich bringen.

9 Ausblick

Der jährliche Verbrauch an Rohkakao wächst stetig an. Um der Nachfrage auch in Zukunft gerecht werden zu können, sind Rohkakaogenotypen mit Resistenzeigenschaften und guter Produktqualität eine Möglichkeit den wirtschaftlichen Anforderungen gerecht zu werden. Bewehren sich die Klone in der südamerikanischen Agrarwirtschaft, ist dies die Grundlage in Zukunft erneut zu einem der großen Produzenten für Rohkakao anzuwachsen. Auch andere Anbauggebiete können von den Erkenntnissen und Erfolgen bei der Bepflanzung mit resistenten Klonen profitieren und die jährlichen Verluste, die durch Pilzpathogene verursacht werden, verringern. Es gilt nun also das Samengut an die Produzenten weiter zu geben und im Feld zu testen.

10 Literaturverzeichnis

Anmerkungen: In einigen der Fachartikel fehlt die Angabe der Jahreszahl. Dies wurde in den Artikeln selbst nicht deutlich aufgezeigt. Den verwendeten Quellen nach zu urteilen muss die Veröffentlichung jedoch nach 2005 datiert sein.

Aime, M. C., Phillips-Mora, W. (2005) The casual agents of witches` broom and frosty pod rot of cacao (chocolate, *Theobroma cacao*) from a new lineage of Marasmiaceae, *The Mycological Society of America, Mycologia* 97 (5), S. 1012-1022.

Alverson, W. S., Whitlock, B. A., Nyffeler, R., Bayer, C., Baum, D. A. (1999) Phylogeny of the core Malvales: evidence from *ndhF* sequence data, *American Journal of Botany* 86, 1474-1486.

Bartley, B. G. D. (2005) *The genetic diversity of cacao and its utilization*, CABI, Cambridge, S. 341.

Biehl, B., Brunner, E., Passern, D. (1985) Acidification, Proteolysis and Flavour Potential in Fermenting Cocoa Beans, *Journal of Scientific Food Agric.* 36, S. 583-598.

Cervantes-Martinez, C., Brown, J. S., Schnell, R. J., Phillips-Mora, W., Takrama, J. F., Motamayor, J. C. (2007) Combining Ability for Disease Resistance, Yield, and Horticultural Traits of Cacao (*Theobroma cacao* L.) Clones, S. 231-241.

Clapperton, J. (1994) Visit Report November 1994, the BAL/BCCCA Estate and Cocoa Flavour and Quality Report, BCCCA London.

Cook, L. R., Meursing, E. H. (1982) *Chocolate production and use*, Harcourt Brace Jovanovich, New York, S.15.

Dand, R. (1999) *The international cocoa trade*, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England.

Elwers, S. (2008) Zusammensetzung und histologische Verteilung der phenolischen Substanzen in Samen von Massen- und Edelkakao-Varietäten (*Theobroma cacao* L.).

Fincke, H. (1965) Handbuch der Kakaoerzeugnisse, Springer Verlag, Aufl. 2.

Fowler, M. S. (1994) Fine or flavour cocoas: current position and prospects, *Cocoa Growers' Bulletin*, Vol. 48, S. 17-23.

Griffith, G. W., Hedger, J.N. (1994) The breeding biology of biotypes of the witches' broom pathogen of cocoa, *Crinipellis pernicios*a, *The Genetical Society of Great Botany, Heredity* 72, S.278-289.

Guest, D. (2007) Black Pod: Diverse Pathogens with a Global Impact on Cocoa Yield, *The American Phytopathological Society, Phytopathology* 97, S. 1650-1653.

Hebbar, P. K. (2007) Cacao Diseases: A Global Perspective from an Industry Point of View, *The American Phytopathological Society, Phytopathology* 97, S. 1658-1663.

Hoffmann, G. M., Nienhaus, F., Schönbeck, F., Weltzien, H. C., Wilbert, H. (1985) *Lehrbuch der Phytomedizin*, Paul Prey, Berlin und Hamburg.

Milz, J. (2006) Einfluss von Anbau- und Pflegemaßnahmen auf die Hexenbesenkrankheit (*Crinipellis pernicios*a (Stahel) Singer) bei Kakaoklonen im Siedlungsgebiet Alto Beni – Bolivien, *Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin*, S. 14ff.

Moreno, A. (2000) *La Investigación Venezolana en Cacao: Situación Actual. Memorias del Primer Congreso Venezolano del Cacao y su Industria*, AGETROP/CIRAD, Montpellier, France, Estacion Experimental de Caucagua, FONAIAP, Venezuela, S.164-178.

Nganhou, J., Bénét, J. C., Augier, F., Berthomieu, G., Njomo, D. (2003) Perfecting a method of microanalysis of water and acetic acid in a cocoa bean in the course of drying: applying to determine transportation coefficients, *Haet and Mass Transer* 39, S. 797-803.

OMIKORN GmbH, (2000) [http:// www.chemikalienlexikon.de/cheminfo/0160-lex.htm](http://www.chemikalienlexikon.de/cheminfo/0160-lex.htm), Stand 21.02.2011.

Parker, P. M. (2009) The 2009 World Market Forecasts for Imported Cocoa Beans, ICON Group International Inc., Kalifornien, USA. S. 9-12.

Phillips, W., Castillo, J., Arciniegas, A., Mata, A., Sánchez, A. Leandro, M., Astorga, C., Motamayor, J., Guyton, B., Seguíne, E., Schnell, R. (2006) Overcoming the Main Limiting Factors of Cacao Production in Central America Through the Use of Improved Clones Developed at CATIE, S. 1-6.

Phillips-Mora, W., Ortiz, C. F., Aime, M. C. (2006) Fifty Years of Frosty Pod Rot in Central America: Chronology of its Spread and Impact from Panama to Mexico.

Phillips-Mora, W., Wilkinson, M. J., Frosty Pod of Cacao: A Disease with a Limited Geographic Range but Unlimited Potential Damage, *The American Phytopathological Society, Phytopathology* 97, No. 12, S. 1644-1647.

Ploetz, R. C. (2007) Cacao Diseases: Important Threats to Chocolate Production Worldwide, *The American Phytopathological Society, Phytopathology* 97, S. 1634-1639.

Richtlinie 98/64/EG der Kommission (1998) zur Festlegung gemeinschaftlicher Analysemethoden für die Bestimmung von Aminosäuren, Rohfetten und Olaquinox in Futtermitteln und zur Änderung der Richtlinie 71/393/EWG, *Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften*.

Rohsius, C. (2007) Die Heterogenität der biologischen Ressource Rohkakao (*Theobroma cacao* L.).

Rubini, M. R., Silva-Ribeiro, R. T., Pomella, A. W. V., Maki, C. S., Araújo, W. L., dos Santos, D. R., Azevedo, J. L. (2005) Diversity of endophytic fungal community of cacao (*Theobroma cacao* L.) and biological control of *Crinipellis pernicios*, casual agent of Witches' Broom Disease, Ivyspring International Publisher, International Journal of Biological Sciences, Nr. 1, S. 24-33.

Rohsius, C., Elwers, S., Lieberei, R., Cocoa Atlas 2010 (2010) Germen Cocoa and Chocolate Foundation, Hamburg/Bonn, Germany.

Schaarschmidt, C. (2008) Theobromin – Zur Geschichte und Gegenwart eines Wirkstoffs.

Sies, H. (2006) Flavonoide in Kakao und Schokolade, Schutz vor kardiovaskulären Erkrankungen, Lebensmittelchemisches Institut der Deutschen Süßwarenindustrie, Moderne Ernährung Heute Nr.2, S. 1-5.

Voigt, J., Heinrichs, H.; Voigt, G., Biehl, B. (1994) Cocoa-specific aroma precursors are generated by proteolytic digestion of the vicilin-like globulin of cocoa seeds, Elsevier Science Limited, Food Chemistry 50, S. 177-184.

Wolters, B., (1999) Zur Verbreitungsgeschichte und Ethnobotanik indianischer Kulturpflanzen, insbesondere des Kakaobaums, Journal of Applied Botany 73, 128-137.

Ziegleder, G. (1990) Linalool contents as characteristic of some flavor grade co-coas. Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und Forschung, Vol. 191 (4-5) S. 306-309.

11 Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere, dass ich die vorliegende Arbeit ohne fremde Hilfe selbstständig verfasst und nur die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe. Wörtlich oder dem Sinn nach aus anderen Werken entnommene Stellen sind unter Angabe der Quellen kenntlich gemacht.

Ort, Datum

12 Anhang

Tabellarische Auflistung aller gemessenen Ergebnisse: Soweit nicht anders angegeben sind die bestimmten Einzelwerte der Doppel- oder Dreifachbestimmungen angegeben. Felder bzw. Werte die mit „-“ gekennzeichnet sind konnten von der HPLC nicht detektiert werden.

Analyse	CATIE R-1	CATIE R-4	CATIE R-6	PMCT - 58	CC - 137
Aroma - olfaktorisch	Schwach	Aroma- tisch	Schwach	Schwach	Schwach
Schale	Matt, leicht feucht	Matt	Matt, dick, leicht gräu- lich	Matt, dünn	Matt, dick
Gewicht von 100 Bohnen in g	136	143	138	114	185
Durchschnittliches Einzelbohnenge- wicht in g	1,25	1,3	1,35	1,15	2
Anteile schiefriger- /violetter-/schimmliger- Bohnen in % (ermittelt aus insg. 250 geschnittenen Bohnen)					
Schiefrig	2,4	0,4	-	-	0,5
Schiefrig – violett	4,8	4	1,6	-	3
Vollviolett	6,8	9,2	9,2	17,6	22,5
Braunviolett	23,6	25,2	23,2	26,8	40,5
Hellbraunbrechend	0,4	0,4	2,4	0,4	-
Schimmel	-	0,4	-	-	-
Wasserbestimmung in %	6,9	6,0	6,5	5,6	5,6
	6,8	5,8	6,7	5,9	5,5
	7,0	6,0	6,6	5,7	5,6
Gesamtfett in %	52,0	56,6	56,5	59,31	51,08
	52,6	55,8	54,9	58,91	49,42
pH Wert	5,0	5,2	5,1	5,5	5,7
	5,0	5,2	5,1	5,5	5,7

Organische Säuren in mg/g					
Milchsäure	1,6687	1,5296	1,5132	1,2946	1,2422
	1,7168	1,6264	1,4800	1,4335	1,2846
Ø Milchsäure in mg/g ffTM	0,691	0,598	0,564	0,480	0,558
Essigsäure	0,2785	0,3563	0,3659	0,2054	0,1718
	0,2695	0,4131	0,3511	0,2267	0,1472
Ø Essigsäure in mg/g ffTM	0,112	0,146	0,135	0,076	0,070
Methylxanthine in mg/g ffTM					
Theobromin	0,673	0,832	0,703	0,861	1,115
	0,709	0,835	0,702	0,860	1,117
Coffein	0,325	0,222	0,199	0,303	0,455
	0,342	0,224	0,199	0,304	0,457
Theobromin-Coffeinquotient (T/C)	2,075	3,735	3,533	2,842	2,447
Freie Aminosäuren in mg/g ffTM					
Asparaginsäure	0,447582	0,386283	0,329095	0,484692	0,161114
	0,440878	0,371508	0,350101	0,494916	0,164374
Glutamin	0,1346942	1,219493	1,005561	1,227530	1,065510
	1,286444	1,137318	1,046400	1,267326	1,109478
Asparagin	1,418718	1,020483	0,689500	1,833240	1,395672
	1,358953	0,999509	0,737287	1,883271	1,403888
Serin	0,583131	0,463805	0,376730	0,859077	0,292595
	0,539843	0,451234	0,408124	0,878409	0,293711
GABA	1,121752	1,007287	0,864342	1,309399	0,746027
	1,157616	0,958399	0,919072	1,375741	0,758781
Valin	1,340811	1,181368	1,166226	2,194087	0,646064
	1,324716	1,133683	1,231651	2,240975	0,662334
Phenylalanin	2,125158	1,850158	1,695058	3,366685	1,186700
	2,108414	1,762580	1,797187	3,433579	1,240018
Isoleucin	0,690961	0,614312	0,637394	1,139482	0,427811

	0,687593	0,598181	0,669527	1,157479	0,439898
Leucin	3,110364	2,585701	2,478109	4,174096	1,344317
	3,019745	2,471417	2,653614	4,266513	1,373837
Lysin	1,289278	0,954137	1,137553	2,044876	0,373568
	1,285119	1,016415	1,177380	2,176824	0,366081
Glutamin	0,736450	0,687970	-	0,876535	-
	0,679782	0,668011	0,876533	0,882283	-
Histidin	0,990826	0,922578	1,057987	1,140126	-
	0,925666	0,890886	1,143085	1,149618	-
Glycin	0,217162	0,178649	0,189111	0,318815	0,141248
	0,209892	0,177520	0,199869	0,327219	0,141511
Threonin	0,293201	0,250547	0,230776	0,465020	0,162038
	0,279732	0,237837	0,246981	0,477745	0,170759
Alanin	1,370964	1,337468	1,474518	2,021122	1,311976
	1,316194	1,323931	1,517206	2,069409	1,318679
Tryptophan	-	-	-	-	0,245805
	-	-	-	-	0,263532
Gesamt FAA (aufsummiert aus vorab gebildeten Mittelwerten)in mg/g ffTM	16,85	14,43	14,18	23,77	9,60
Gesamtzucker in mg/g ffTM					
Fructose	2,4424	1,7892	1,5336	1,0366	0,8520
	1,9738	1,6472	1,5904	1,1360	0,8662
Glucose	0,5610	0,6160	0,9790	0,1650	0,4730
	0,5390	0,5610	1,1000	-	0,4730
Saccarose	-	0,1269	-	-	0,6486
	-	-	-	-	0,6486
Summe (der Mittelwerteder red. Zucker)	2,059	1,787	2,046	0,836	1,492
Polyphenole in mg/g ffTM					
Gesamtphenole	53,436	52,287	56,193	64,059	65,120

	56,936	51,973	48,700	61,602	63,221
(-)- Epicatechin	4,758	2,278	3,046	2,932	7,180
	4,498	2,158	3,360	3,211	7,528
(+) -Catechin	0,198	-	-	-	0,318
	0,114	-	-	-	0,336