

Aus dem Institut für Pflanzenzüchtung Bernburg der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin

## Vergleich von Serienmethoden zur Fettbestimmung in der Pflanzenzüchtung\*

Von W. FRANZKE

Mit 1 Abbildung

Wird die züchterische Verbesserung des Ölgehaltes von Pflanzen angestrebt, so ist die Untersuchung eines umfangreichen Materials erforderlich. Das Standardverfahren nach SOXHLET (1879) zur quantitativen Bestimmung des Ölgehaltes eignet sich für züchterische Belange wenig, weil es einen beträchtlichen apparativen und zeitlichen Aufwand erfordert. Zur Ausführung der analytischen Untersuchungen stehen aber zwischen der Ernte und der Aussaat nur wenige Wintermonate zur Verfügung. Außerdem kann die Züchtung nicht mit einem untragbar hohen Kostenaufwand belastet werden.

Es wird also eine billige Schnellmethode benötigt, die ausreichend genaue Ergebnisse liefert. Die Genauigkeit der Werte kann im allgemeinen geringer sein als bei wissenschaftlichen und technischen Untersuchungen. Das Maß ihrer Reduzierung wird aber von der Art des Zuchtmaterials und vom Züchtungsverfahren bestimmt.

Als v. SENGBUSCH (1942) eine Steigerung des Ölgehaltes der weißen Lupine von 9% auf 15–20% anstrebte, arbeitete er die Fettfleckmethode aus, die auf folgendem Prinzip beruht: Getrocknete Körner werden unter möglichst konstanten Bedingungen zwischen weißem Karton gepreßt und die Größe des entstehenden Fettflecks als Selektionsmaß verwendet. Dieses halbquantitative Schätzungsverfahren erlaubt, ein sehr umfangreiches Material zu prüfen, vermag aber nur solche Formen mit Sicherheit zu erkennen, die wenigstens 4% über dem Durchschnitt liegen (SCHWARZE 1949). Die Suche nach Extremformen ist jedoch lediglich bei züchterisch wenig bearbeitetem Material erfolgversprechend. Im allgemeinen besteht aber die Aufgabe einer allmählichen Steigerung des Ölgehaltes, wozu Methoden mit einer Genauigkeit von  $\pm 0,3\%$  nötig sind. Eine größere Genauigkeit der Analysenergebnisse ist nicht erforderlich, weil der Züchter nach genotypischen Unterschieden im Zuchtmaterial sucht, der Fettgehalt aber eine phänotypische Eigenschaft darstellt. Die durch Umweltfaktoren hervorgerufenen Abweichungen können daher größer als die erblich bedingten Differenzen sein, so daß ein genaueres, mit höherem Aufwand verbundenes Verfahren nicht wirksam werden würde. Der Vergleich seiner Zuchtstämme ist dem Züchter trotz dieser Modifizierbarkeit der chemischen Zusammensetzung der Pflanze durch die Einschaltung von biologischen Standards möglich.

Die phänotypischen Unterschiede fallen bei der Analyse von Einzelpflanzen stärker ins Gewicht, während sie sich bei Stämmen proportional deren Größe verringern. Das Ergebnis der Einzelpflanzenuntersuchung ist also von der Probe her mit einem größeren Unsicherheitsfaktor belastet, so daß Verfahren geringerer Genauigkeit ausreichend sind.

\* Herrn Professor Dr. OBERDORF zum 65. Geburtstag gewidmet.

Mikromethoden kommen trotz ihres sparsamen Chemikalieneinsatzes und anderer Vorteile im allgemeinen nicht in Betracht. Einmal wird die Einsparung von Chemikalienkosten dadurch hinfällig, daß an die Durchführung der Analyse erhöhte Genauigkeitsanforderungen gestellt werden müssen. Zum anderen kommt es dann bei der Heterogenität des pflanzlichen Untersuchungsmaterials sehr leicht zu falschen Analysenbefunden, weil eine nicht repräsentative Durchschnittsprobe analysiert wurde. Mikromethoden haben aus diesen Gründen nur dann eine Berechtigung, wenn insgesamt nur sehr wenig Pflanzenmaterial zur Verfügung steht. Sie sollten sich weiterhin auch aus arbeitstechnischen Gründen auf den Ausnahmefall beschränken.

Im folgenden soll über unsere Erfahrungen bei der Anwendung von Serienmethoden zur Bestimmung des Ölgehaltes in Pflanzen für züchterische Zwecke berichtet werden. Das Hauptaugenmerk legen wir neben der Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Analysenwerte besonders auf den Bedarf an Zeit und Geräten sowie auf die Höhe der Chemikalienkosten.

### Material und Methoden

Zur Untersuchung gelangten die lufttrockenen Samen von Sonnenblumen (entschalt), Lein, Leindotter und *Crambe abyssinica*. Das gesamte Untersuchungsmaterial jeder Pflanzenart wurde mit einer Schlagmühle „Pirouette“ (16 000 U/Min.) sehr fein zerkleinert. Wegen der hohen Tourenzahl der Mühle muß darauf geachtet werden, daß sie nur kurze Zeit läuft. Es kommt sonst zum Austritt von Öl aus den Pflanzenzellen und dadurch zum Verkleben des Materials, wodurch die Entnahme einer repräsentativen Analysenprobe unmöglich wird. Die Mahldauer hängt von der Pflanzenart, der Menge des Mahlgutes und dem Fettgehalt des Untersuchungsmaterials ab.

Die Methoden wurden unter möglichst gleichen Bedingungen geprüft, um eine Aussage über ihre Brauchbarkeit für unsere Zwecke zu erhalten. Die Extraktionszeiten wurden so bemessen, daß sie den Anforderungen, die an ein Serienverfahren gestellt werden müssen, genügen.

Es wurden folgende Verfahren geprüft:

#### 1. Standardextraktion nach SOXHLET (1879).

Je 10 g Material wurden 6 Stunden in der üblichen Apparatur mit peroxyd- und wasserfreiem Äther extrahiert.

#### 2. Extraktion nach SCHMALFUSS (1936 b).

Diese Methode unterscheidet sich vom SOXHLET-Verfahren durch eine Vereinfachung der Apparatur. Der Extraktionskolben und das Mittelstück des Extraktors sind über eine Verengung direkt miteinander verbunden. Als Extraktionshülse wird ein Glasfiliertiegel 1 G3 eingesetzt, der seitlich im Boden unterhalb der Sinterplatte Einschnitte trägt, damit der Lösungsmitteldampf nach oben steigen kann.

Zur Einwaage kamen je 3 g bei einer Extraktionszeit von 6 Stunden und Äther als Extraktionsmittel.

### 3. Extraktion nach der Rückstandsmethode.

Bei dem Rückstandsverfahren werden je 2 g Material in vorgetrockneten und gewogenen Filterpapiertütchen 3 Std. bei 95 °C getrocknet, im Exsikkator abgekühlt und auf einer Einschalenanalysenwaage gewogen. In eine SOXHLET-Apparatur von 1,4 Liter Nutzinhalt werden gleichzeitig 80 Filterpapiertütchen eingelegt (Abb.). Um bei jedem Lösungsmittelumlauf eine möglichst vollständige Abheberung des Extraktionsmittels zu erreichen, wird in den Extraktor ein Drahtsieb eingesetzt. Außerdem ist eine Beschwerung der Tütchen erforderlich, wenn eine einwandfreie Lagerung erreicht werden soll.

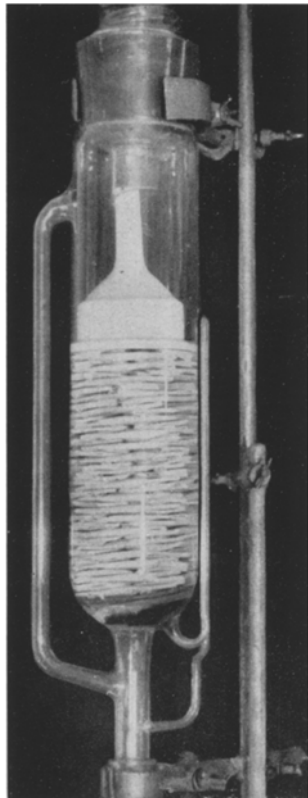


Abb. 1. Extraktion in der SOXHLET-Apparatur nach der Rückstandsmethode

Zunächst wird nachmittags 2 Stunden mit Äther im elektrisch beheizten, regulierbaren Wasserbad extrahiert, die Untersuchungsproben über Nacht unter Äther stengelassen und am nächsten Tag noch weitere 4 Stunden die Extraktion fortgesetzt. Nach dem Verdunsten des Lösungsmittels werden die Filterpapiertütchen wieder 3 Stunden bei 95 °C getrocknet und dann zurückgewogen. Aus der Differenz zwischen Ein- und Auswaage ergibt sich der Gehalt an Öl.

### 4. Refraktometrische Methode.

Ihr Prinzip liegt darin, daß das Fett in einer gemessenen Menge ( $v_{Lsgm.}$ ) eines Extraktionsmittels bekannter Brechung ( $n_{Lsgm.}$ ) gelöst wird. Aus dem Brechungsindex der Lösung ( $n_{Lsg.}$ ) kann der Fettgehalt berechnet werden.

Nach LEITHE (1936) wurden je 2 g zerkleinertes Material mit der doppelten Menge Seesand 2 Minuten im Mörser verrieben, genau 2 ml  $\alpha$ -Bromnaphthalin ( $n_D^{20}$  1.6579) zugegeben und nochmals 2 Minuten verrieben. Die Lösung wurde abgesaugt und ihre Brechung im ABBE-Refraktometer bei 20 °C unter Anschluß an den Thermostaten gemessen.

Der Ölgehalt errechnet sich dann aus folgender Formel:

$$\% \text{ Fett} = \frac{v_{Lsgm.} \cdot d_F}{\text{Einwaage in g}} \cdot \frac{n_{Lsgm.} - n_{Lsg.}}{n_{Lsg.} - (n_F + 0.0010)} \cdot 100.$$

Gegen die refraktometrische Bestimmung des Fettgehaltes wurden von verschiedenen Autoren Einwände vorgebracht, weil in der Brechungsformel mit einem konstanten Brechungsindex ( $n_F$ ) für das jeweilige Öl gerechnet wird. Es wurden deshalb auf

kaltem Wege mit einer hydraulischen Laboratoriumspresse Preßöle hergestellt und der Brechungsindex der verschiedenen Untersuchungsproben ermittelt, während für die Dichte ( $d_F$ ) des jeweiligen Öles die Literaturwerte verwendet wurden (Tab. 1).

Tabelle 1. Physikalische Daten der Öle von Sonnenblumen, *Crambe abyssinica*, Lein und Leindotter.

Ölsaart	$n_D^{20}$	$d_{20}^{20} / ^\circ\text{C}$
Sonnenblumen	1,4768	0,922
<i>Crambe abyssinica</i>	1,4732	0,907
Lein	1,4830	0,929
Leindotter	1,4790	0,922

## Ergebnisse

Für die statistische Auswertung der Extraktionsergebnisse wurden jeweils 10 Einzeluntersuchungen herangezogen, die unter möglichst idealen und gleichmäßigen Bedingungen durchgeführt wurden. Um eventuelle Probeentnahmefehler und Abweichungen durch unterschiedliche Mahlfineinheit der Untersuchungsprobe auszuschalten, diente in allen Fällen die in der Schlagmühle homogenisierte Gesamtprobe als Analysenmaterial.

Tabelle 2. Ölgehalt der Samen von Sonnenblumen, Lein, *Crambe abyssinica* und Leindotter, bezogen auf Trockensubstanz unter Anwendung unterschiedlicher Extraktionsmethoden.

	Extraktion		Rückstandsmethode	Refraktometrische Bestimmung
	SOXHLET	SCHMALFUSS		
Sonnenblumen				
Mittelwert %	54,97	54,98	55,69	54,76
Schwankungsbreite %	0,49	0,56	0,41	0,52
s	0,158	0,195	0,129	0,154
Lein				
Mittelwert %	29,98	28,76	33,76	32,88
Schwankungsbreite %	0,76	0,83	0,46	0,53
s	0,224	0,285	0,152	0,176
<i>Crambe abyssinica</i>				
Mittelwert %	36,41	35,62	37,31	34,42
Schwankungsbreite %	0,35	0,57	0,39	0,48
s	0,115	0,205	0,136	0,142
Leindotter				
Mittelwert %	41,27	41,29	42,58	39,34
Schwankungsbreite %	0,42	0,61	0,65	0,42
s	0,131	0,208	0,190	0,141

Die Ergebnisse des Methodenvergleiches (Tab. 2) zeigen, daß unter den geprüften Extraktionsbedingungen nach der Rückstandsmethode in allen Fällen die Fettwerte am höchsten ausfallen. Die hier erfolgte erschöpfendere Extraktion erklärt sich aus den besseren Bedingungen, unter denen das Öl aus dem Untersuchungsmaterial ausgezogen wird. Da es bei jedem Umlauf des Lösungsmittels im Mittelstück des Extraktors zu einer vollständigen Abheberung des Extraktes kommt, wird während der zweistündigen Extraktion nachmittags bereits die Hauptmenge des Öles extrahiert. Über Nacht kommt es zu einer guten Durchdringung der Zellwände durch Äther, weshalb bei der Nachextraktion am nächsten Tage das restliche Fett schnell ausgezogen wird. Besonders bei der Extraktion des Leins macht sich die mangelnde Diffusion des Lösungsmittels durch die Zellwandung stark bemerkbar. Sie wird durch die Quellung des Leinschleimes hervorgerufen. Aus diesem Grunde

fallen die Extraktionswerte nach SOXHLET und SCHMALFUSS beim Lein bedeutend niedriger aus. Die Differenzen lassen sich zwar beseitigen, wenn die Extraktionszeiten bei diesen Methoden dem Material entsprechend verlängert werden. Längere Extraktionszeiten bedeuten aber einen geringeren Durchsatz pro Tag.

Die Extraktionswerte nach SCHMALFUSS entsprechen denen nach SOXHLET bzw. liegen niedriger. Die niedrigsten Gehalte werden mit Ausnahme beim Lein nach der refraktometrischen Methode erhalten. Dies ist sehr wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß die Zellwände der Samen bei der kurzen Extraktionszeit von 4 Minuten trotz der Verreibung mit Quarzsand im Mörser nicht vollständig vom Extraktionsmittel durchdrungen werden und somit Öl in unverletzten Zellen der Bestimmung entzogen wird. Allerdings wird oft geltend gemacht, daß bei der Ätherextraktion auch andere Substanzen wie Farbstoffe, organische Säuren, ätherische Öle, Wachse und Harze mit erfaßt werden und dadurch ein höherer Ölgehalt vorgetäuscht würde. Mit diesem Standpunkt wird aber die sicher nicht zulässige Annahme eines selektiven Lösungsvermögens von  $\alpha$ -Bromnaphthalin für Öl gemacht.

Hinsichtlich der Reproduzierbarkeit der Analysenwerte sind die vier geprüften Methoden annähernd gleich zu bewerten. Lediglich nach SCHMALFUSS fällt die Streuung der Einzeluntersuchungen jeweils am höchsten aus, weil bei diesem Verfahren die Einzelprobe am unterschiedlichsten extrahiert wird. Die Glasfiliertiegel lassen nämlich nur, wenn sie neu sind, das Extraktionsmittel einigermaßen gleich durch. Besonders bei sehr fein gemahlenen Substanzen, wie sie in der Pirouette erhalten werden, treten sehr bald Verstopfungen der Sinterplatte auf. Dadurch variieren die Durchlässigkeit und damit auch die Extraktionsbedingungen stark.

Verschiedentlich wurden Einwände gegen das refraktometrische Analysenverfahren besonders bei Leinuntersuchungen erhoben, weil in der Berechnungsformel des Fettgehaltes ein konstanter Brechungsindex für das jeweilige Öl verwendet wird und sortenbedingte Schwankungen unberücksichtigt bleiben. LEITHE (1941) hält diese Kritik für nicht berechtigt und begründet es mit eigenen Untersuchungen an Lein, bei denen nur in Ausnahmefällen Schwankungen von  $n_F$  zwischen 0,0010 und 0,0020 auftraten. Um eine Aussage über die Variation der Brechungsindices verschiedener Stämme und die damit verbundene Beeinflussung des Analysenergebnisses zu erhalten, prüften wir zunächst 1957 80 Leinstämme mit dem Ergebnis, daß die Brechungsindices  $n_D^{20}$  der Preßöle von 1,4788 bis 1,4819 schwankten. Damit wurde der von LEITHE (1936) angegebene Wert  $n_D^{20}$  1,4815 in den meisten Fällen nicht erreicht. Zwischen dem Brechungsindex des Öles der einzelnen Stämme und ihrem Fettgehalt, der zwischen 25,9 und 32,5% in der Trockensubstanz lag, bestand keinerlei Korrelation. Der maximal festgestellten Abweichung des Indexes von 0,0031 Einheiten entspricht ein Fettgehalt von 0,8%.

1958 prüften wir dann die Brechungsindices der Preßöle von 38 Sonnenblumen- (Tab. 3) und 36 Leindotterstämmen (Tab. 4) mit analogen Ergebnissen, wobei wiederum keinerlei Beziehung zwischen dem

Tabelle 3. Ölgehalt von 38 Sonnenblumenstämmen, bezogen auf Trockensubstanz und Brechungsindices von Preßölen aus diesen Stämmen (Ernte 1958).

Probenanzahl	$n_D^{20}$	Schwankungsbreite des Ölgehaltes
1	1,4733	48,0
2	1,4734	50,0—51,1
1	1,4738	49,4
1	1,4739	49,7
2	1,4740	50,8—52,5
2	1,4741	49,5—51,1
4	1,4742	47,7—52,7
7	1,4743	48,8—52,6
3	1,4744	48,8—50,5
3	1,4745	49,7—51,4
3	1,4746	49,6—50,4
1	1,4748	50,1
5	1,4749	48,3—51,7
3	1,4751	50,2—50,6

Tabelle 4. Ölgehalt von 36 Leindotterstämmen, bezogen auf Trockensubstanz und Brechungsindices von Preßölen aus diesen Stämmen (Ernte 1958).

Probenanzahl	$n_D^{20}$	Schwankungsbreite des Ölgehaltes
1	1,4749	40,0
1	1,4751	37,6
2	1,4752	39,1—40,2
1	1,4762	39,7
1	1,4765	41,0
1	1,4767	42,9
1	1,4768	41,5
2	1,4769	39,2—42,2
2	1,4771	39,0—40,0
1	1,4772	40,2
1	1,4773	40,4
3	1,4775	38,9—42,3
1	1,4776	39,2
2	1,4777	41,5—43,3
3	1,4778	38,3—41,2
3	1,4779	37,7—42,6
7	1,4780	39,7—42,2
1	1,4781	41,5
2	1,4782	42,0—42,3

Brechungsindex und dem Ölgehalt bestand. Bei Sonnenblumen bleibt  $n_D^{20}$  dabei in allen Fällen unter dem Literaturwert von  $n_D^{20}$  1,4754 (SCHARRER und LAMEL 1938a), während beim Vergleichsmaterial der methodischen Untersuchung sowohl beim Lein als auch bei Sonnenblumen (Tab. 1)  $n_D^{20}$  über den Angaben von LEITHE (1936) sowie SCHARRER und LAMEL (1938a) liegt.

Der maximalen Abweichung bei Sonnenblumen von 0,0018 Einheiten entsprechen 0,62% Fett, während bei Leindotter 0,0033 Einheiten 0,75% Fett ausmachen. Wie bereits aus der Berechnungsformel ersichtlich, wird also der absolute Fehler pro Einheit der letzten Dezimale des Brechungsindex mit steigendem Ölgehalt größer.

### Diskussion

Es hat nicht an Versuchen gefehlt, das von SOXHLET (1879) vorgeschlagene Extraktionsverfahren besonders für Serienuntersuchungen zu verbessern. Die Bemühungen erstreckten sich auf die Verkürzung der langen Extraktionszeiten, die Verminderung des hohen Lösungsmittelverbrauches, die Vereinfachung der Apparatur und die Beseitigung des hohen apparativen Aufwandes.

Zuletzt wurde von SCHWARZE (1949) umfassend über die Möglichkeiten zur Vereinfachung der Ölbestimmung in pflanzlichem Material für züchterische Zwecke berichtet. Er prüfte von den Methoden, die bei uns in den letzten Jahren erprobt und angewendet wurden, vor allem das SOXHLET-Verfahren und die refraktometrische Fettbestimmung. Außerdem wies er auch auf die Möglichkeit hin, nicht das extrahierte Öl, sondern den Extraktionsrückstand zu wiegen und aus der Differenz zur Einwaage den Fettgehalt zu berechnen.

Auf die Vorteile, aus der Menge des Extraktionsrückstandes den Ölgehalt zu ermitteln, machte bereits FRÜHLING (1889) aufmerksam. In der Folgezeit wurde dieses Verfahren wiederholt angeregt (KUHLMANN 1927, HEIDUSCHKA und MUTH 1928, SCHMALFUSS 1936b), ohne daß es Eingang in die Praxis fand. SCHWARZE (1949) erkannte ebenfalls seine bedeutend höhere Leistungsfähigkeit hinsichtlich der Zahl der Einzeluntersuchungen und des apparativen Aufwandes. Er sah aber einen wesentlichen Nachteil darin, daß der Extraktionsrückstand feuchtigkeitsempfindlich ist und begierig Wasser aus der Luft aufnimmt, weshalb er vor der Wägung im Exsikkator aufbewahrt werden muß. Die nachfolgend erforderliche rasche Wägung des Rückstandes konnte von ihm nicht im notwendigen Maße verwirklicht werden, so daß SCHWARZE bei seinen Untersuchungen infolge Feuchtigkeitsaufnahme durch das extrahierte Gut zu niedrige Fettgehalte erhielt. Demgegenüber konnten ERMAKOW und Mitarbeiter (1952) mit dieser Methode gut reproduzierbare Ergebnisse erhalten, die in Übereinstimmung mit den Werten der SOXHLET-Extraktion standen.

SCHWARZE sah vor allem in der refraktometrischen Methode eine Möglichkeit, die bei der züchterischen Bearbeitung von Ölpflanzen erforderlichen umfangreichen Untersuchungen zu bewältigen. Das Verfahren geht auf WESSON (KALOYEREAS, CRUESS und LESLEY 1928) zurück, der die Probe im Mörser bei 70 °C mit  $\alpha$ -Chlornaphthalin ( $n_D^{20}$  1.63) verreibt. Die großen Vorteile der Methode liegen darin, daß die Einzeluntersuchung sehr schnell ausgeführt werden kann. Der Zeitbedarf beträgt nur 15 Minuten. Die Verreibung der Proben mit der Hand führt jedoch bei Serienuntersuchungen zu erheblichen Fehlern, weil der Untersuchende durch Ermüdung die Proben im Laufe des Tages immer weniger gleichmäßig im Mörser zerkleinert, wodurch die ermittelten Ölgehalte zu niedrig ausfallen. Der Einsatz einer mechanischen Verreibung ist deshalb unbedingt erforderlich.

Gegen das refraktometrische Verfahren gibt es aber einen prinzipiellen Einwand, denn der Brechungsindex des Öles darf nicht als konstante Größe angesehen werden. Auf den dadurch entstehenden Fehler wurde man aufmerksam, als LEITHE (1934) das unangenehm riechende Chlornaphthalin durch Benzin ersetzte. Sortenbedingte Schwankungen von  $n_F$  machen sich hier besonders stark bemerkbar, weil der Unterschied zwischen dem Brechungsindex der pflanzlichen Öle ( $n_D^{20}$  1.46—1.48) und des Extraktionsmittels Benzin ( $n_D^{20}$  1.39—1.40) relativ klein ist. Wegen des kleinen Meßbereiches muß an Stelle des ABBE-Refraktometers ein Eintauchrefraktometer verwendet werden, wenn verwertbare Ergebnisse erhalten werden sollen. Außerdem wurde von FRITZ (1935)

vorgeschlagen, den Fehler der Eigenbrechung auszuschalten, indem von jeder Untersuchungsprobe an Preßölen der Brechungsindex gesondert bestimmt wird. Damit verliert das Verfahren aber seine Eignung als Serienmethode, weil der damit verbundene Arbeitsaufwand zu hoch ist. Das bezieht sich sowohl auf die Analyse selbst als auch auf die dadurch erschwerte Berechnung der Ergebnisse aus der relativ komplizierten Formel.

1936 schlug LEITHE dann eine Kaltextraktion mit  $\alpha$ -Bromnaphthalin ( $n_D^{20}$  1.6575) vor, wodurch der durch die veränderlichen Brechungsindices verursachte Fehler wegen des größeren Meßbereiches kleiner wird und nach Ansicht von LEITHE (1941) unberücksichtigt bleiben kann.

In der Literatur gehen die Meinungen über das Verfahren auseinander. Während es SAITSCHENKO und RSHECHIN (1936) ablehnen, berichten andere Autoren (SCHARRER und LAMEL 1938, SCHWARZE 1949 sowie LINTSCHUK 1952) über gute Erfahrungen, wobei aber nach unserer Meinung das Problem der uneinheitlichen Eigenbrechung nicht genügend beachtet wurde. Exakte Untersuchungen in dieser Richtung führte CLEVE (1937) an Mais durch mit dem Ergebnis, daß die maximale Differenz des Brechungsindex eines großen Sortimentes von 0.0018 Einheiten vernachlässigt werden kann. Dies erklärt sich aus der Proportionalität des absoluten Fehlers der Bestimmung mit dem Ölgehalt des untersuchten Materials. Demzufolge entspricht die maximale Abweichung bei dem relativ fettarmen Mais nur einem Fettgehalt von 0.04%. Das Ergebnis kann jedoch nicht auf fettreiches Material übertragen werden.

LEITHE (1941) fand bei Lein nur in Ausnahmefällen Schwankungen im Brechungsindex von über 0.0010 Einheiten. Verschiedene Literaturangaben ließen jedoch vermuten, daß mit größeren Abweichungen zu rechnen ist. MEARA (1955) weist auf die Abhängigkeit des Brechungsindex der Öle vom Grad der Ungesättigtheit ihrer Fettsäureglyceride hin, was in Zusammenhang mit dem Wasserhaushalt der Pflanze steht. So konnte IWANOW (1929) beim Anbau der gleichen Leinsorte unter kühleren klimatischen Bedingungen in Archangelsk Jodzahlen des Öles um 200 finden, während sie beim Aufwuchs im wärmeren Taschkent auf 150 herabsanken. SCHMALFUSS (1936a) konnte einen zum Teil starken Einfluß der Düngung auf die Höhe der Jodzahl des Leinöles beobachten, wobei die spezifische Wirkung der einzelnen Salzionen auf die Dynamik des Wasserhaushaltes und damit einer Rückwirkung auf den Wärmehaushalt der Pflanze zum Ausdruck kam. Schließlich entwickelten ILLARIONOW und TORTSCHINSKI (1937) sowie COMSTOCK und CULBERTON (1958) auf der Basis der Variation des Brechungsindex Schnellmethoden zur Jodzahlbestimmung an Leinölen, wobei der Grad der Ungesättigtheit direkt am Refraktometer abgelesen wird.

Die Jodzahlen unseres Leinmaterials variierten ebenfalls so stark, daß nach obigen Autoren auch größere Schwankungen der Brechungsindices zu erwarten waren als von LEITHE angegeben. Tatsächlich waren die Differenzen beim Lein sowie auch bei Leindotter und Sonnenblumen so groß, daß sie nicht unberücksichtigt bleiben konnten. Außerdem bleibt unseres Erachtens noch zu überprüfen, ob es zu-

lässig ist, die Dichte des jeweiligen pflanzlichen Öles ebenfalls als konstante Größe bei der Berechnung des Fettgehaltes zu verwenden. Es ist sehr wahrscheinlich, daß sie genau so wie der Brechungsindex sortenbedingten Schwankungen unterliegt, wodurch bei der refraktometrischen Ölbestimmung ein weiterer genereller Fehler gemacht wird. Eine Abweichung der Dichte um eine Einheit der 3. Dezimale ergibt eine Abweichung von 0,1% bezogen auf Fett. Dieser Fehler wirkt sich also ebenfalls bei höheren Fettgehalten stärker aus. Ein weiterer Grund, der uns veranlaßte, das refraktometrische Verfahren wieder aufzugeben, ist der im Verhältnis zu Äther hohe Preis des  $\alpha$ -Bromnaphthalins.

Die von SCHMALFUSS (1936) entwickelte Extraktionsapparatur gestattet gegenüber dem üblichen SOXHLET-Verfahren eine Herabsetzung der Extraktionszeit auf 3 Stunden, weil gleichzeitig im Dampf und Kondensat extrahiert wird. Allerdings muß bei der kurzen Extraktionszeit nach 1,5 Stunden mit Quarzsand verrieben werden, was einer Anwendung als Serienmethode entgegensteht. SCHWARZE (1949) umgeht das Verreiben, indem er die Untersuchungsprobe vor der Extraktion in Filterpapier einpackt und in einer Steilspindelpresse preßt. Wenn damit der Arbeitsaufwand gegenüber dem Verreiben auch geringer wird, so ist diese Maßnahme immer noch zu zeitraubend, um erfolgreich in der Serienuntersuchung eingesetzt zu werden.

Die Apparatur von SCHMALFUSS ist gegenüber dem SOXHLET-Extraktor durch den Wegfall von zwei Normalschliffen sowie dem Steig- und Heberrohr billiger und gestattet gleichzeitig eine Senkung des Ätherverbrauches auf 30%. Die Einwaage liegt bei 3 g und kann auf 0,5 g begrenzt werden. Es können aber täglich von einem Laboranten nicht mehr Untersuchungen als nach SOXHLET bewältigt werden. Nachteilig wirken sich weiterhin die als Extraktionshülsen dienenden Glasfiltertiegel aus. Bereits SCHMALFUSS weist selbst darauf hin, daß bei Serienuntersuchungen besonders auf eine annähernd gleiche Durchflußgeschwindigkeit der Sinterplatten zu achten ist. Dies ist aber in der Praxis außerordentlich schwierig zu realisieren. Einerseits tropfen die Glasfiltertiegel nach wiederholter Reinigung so schnell ab, daß eine schlechte Extraktion des Öles erfolgt. Zum anderen setzen sich bei sehr feingemahlenen Substanzen, wie sie jetzt mit den hochtourigen Schlagmühlen leicht erreicht werden können, die Poren der Sinterplatte vollständig zu, so daß die Untersuchung abgebrochen und wiederholt werden muß. Aus diesem Grund erfordert diese Methode auch eine fortlaufende Überwachung der Extraktion, wenn das Lösungsmittel schneller zutropft, als der Extrakt durch die Sinterplatte abläuft. Die Glasfiltertiegel laufen dann leicht über und schwimmen feste Substanz in den Extraktionskolben. Die erhebliche Einsparung von Chemikalienkosten kann diesen Nachteil nicht aufheben, so daß wir dieses Verfahren heute ebenfalls nicht mehr anwenden.

Die von uns modifizierte Rückstands- oder Restmethode bietet gegenüber der Standardextraktion nach SOXHLET sehr viele Vorteile. Bei Vorhandensein einer Einschalenanalysenwaage können von zwei Laboranten täglich 80 Proben untersucht werden, wobei die Vermahlung des Untersuchungsgutes, die

Trockensubstanzbestimmung und die Berechnung der Ergebnisse eingeschlossen sind. Bei Einzelpflanzenuntersuchungen kann meistens noch auf die Ermittlung des Trockensubstanzgehaltes verzichtet werden, wodurch für die Untersuchung von 80 Proben pro Tag nur noch ein Laborant benötigt wird. Die beträchtliche Einsparung an Arbeitszeit kommt vor allem dadurch zustande, daß die aufwendige Destillation des Lösungsmittels aus jeder Einzelprobe wegfällt. Ein weiterer nicht unbedeutender Vorteil ergibt sich aus dem Fortfall der Reinigung der Extraktionskolben. Neben der Zeiteinsparung sind aber auch die Kosten stark gesenkt. Der Ätherverbrauch sinkt pro Probe auf  $\frac{1}{6}$  und die apparativen Kosten sind bei dem neuen Verfahren ebenfalls gering. Sollen nach dem alten SOXHLET-Verfahren über einen längeren Zeitraum täglich 80 Einzeluntersuchungen durchgeführt werden, so würden dazu 80 Einzelapparaturen von 100 ml Nutzinhalt und 240 Extraktionskolben mit Normalschliff von 250 ml Inhalt benötigt, während bei der beschriebenen Rückstandsmethode nur eine große SOXHLET-Apparatur und zwei Normalschliffkolben von 2000 ml Fassungsvermögen zum Einsatz kommen.

Ohne diese beachtliche Kostensenkung wäre die Durchführung einer so großen Zahl von Einzeluntersuchungen, wie sie in der Züchtung erforderlich sind, nicht möglich.

Die Rückstandsmethode läßt noch kleinere Einwaagen als 2 g zu, ohne daß sich der Analysenfehler stark erhöhen würde. Die geringe Einwaage stellt an sich einen Nachteil gegenüber dem SOXHLET-Verfahren dar, der aber durch die gleichmäßigeren Extraktionsbedingungen wieder ausgeglichen wird. Auf eine Reduzierung der angegebenen Menge von 2 g sollte jedoch aus Gründen einer einwandfreien Probenentnahme verzichtet werden (SCHUPHAN 1953). Bedenkt man die Heterogenität des pflanzlichen Untersuchungsmaterials, welche durch seine genetische Uneinheitlichkeit, die Größe der Individuen, den Grad seiner Differenzierung in morphologischer und anatomischer Hinsicht, die Höhe seines Wassergehaltes, die Größe seines Wirkstoffgehaltes sowie den Stand und die Gleichmäßigkeit seines Reifegrades bestimmt wird, so verbietet sich besonders bei Fremdbefruchtern eine zu kleine Untersuchungsprobe von selbst. Die Mindestmenge, die in der Schlagmühle zerkleinert wird, sollte deshalb bei Lein und Leindotter 5 g, bei *Crambe abyssinica* 7 g und bei entschalteten Sonnenblumen 10 g umfassen. Bei dieser Probengröße liegt die Mahldauer in der Pirouette unter einer Minute.

Wir wenden das Verfahren in der beschriebenen Form nur bei Fettgehalten über 25% an. Bei geringeren Fettwerten ist die Einwaage von 2 g entsprechend zu erhöhen (BÜCHEL und BERGMANN 1962).

### Zusammenfassung

1. Die züchterische Verbesserung des Ölgehaltes von Pflanzen erfordert eine große Zahl analytischer Untersuchungen.
2. Drei Serienmethoden zur Ölbestimmung werden mit dem Standardverfahren nach SOXHLET verglichen.
3. Das SOXHLET-Verfahren ist für umfangreiche Untersuchungen wegen des hohen zeitlichen und

apparativen Aufwandes sowie der hohen Chemikalienkosten nicht geeignet.

4. Der Extraktionsapparat nach SCHMALFUSS ist billiger und senkt die Chemikalienkosten durch geringere Lösungsmittelverluste, während der Zeitbedarf gleich groß ist. Er eignet sich deshalb auch nicht für Serienbestimmungen.

5. Beim SCHMALFUSS-Verfahren ist eine gleichmäßige Extraktion schwer zu verwirklichen.

6. Die refraktometrische Fettbestimmung ist in 15 Minuten durchzuführen. Dieser Vorteil wird dadurch gemindert, daß der Brechungsindex der Öle und wahrscheinlich auch ihre Dichte bei der Berechnung des Fettgehaltes nicht als konstante Größen angesehen werden können.

7. Die modifizierte Rückstandsmethode gestattet die Untersuchung von 80 Proben täglich durch 2 Laboranten, wobei die Vermahlung des Untersuchungsmaterials, die Trockensubstanzbestimmung und die Berechnung der Ergebnisse eingeschlossen sind.

8. Neben dem geringen Zeitbedarf sind bei der Rückstandsmethode der apparative Aufwand und die Chemikalienkosten gering.

9. Die Rückstandsmethode ist nur bei Fettgehalten über 25% in der beschriebenen Form anwendbar. Bei geringeren Ölgehalten ist die Einwaage von 2 g entsprechend zu erhöhen.

10. Die Mindestmenge an Untersuchungsmaterial darf nicht zu klein gewählt werden, um bei der Heterogenität der Pflanzen die Entnahme einer repräsentativen Durchschnittsprobe zu gewährleisten.

#### Literatur

1. BÜCHEL, L., u. W. BERGMANN: Vereinfachung der serienmäßigen Rohfettbestimmung. Ztschr. f. Landw. Versuchs- und Untersuchungswesen 8, 149–155 (1962).
2. CLEVE, H.: Refraktometrische Bestimmung des Ölgehaltes in Mais. Mühlenlaboratorium 7, 159–163 (1937).
3. COMSTOCK, V. E., u. J. O. CULBERTON: Eine Schnellmethode zur Bestimmung des Ölgehaltes von Leinsamen und der Jodzahl des Öles in kleinen Proben. Agronomy Journal 50, 113–114 (1958).
4. ERMAKOW, A. J., W. W. ARASSIMOWITSCH, M. J. SMIRNOWA-IKONNIKOWA u. I. K. MURRI: Methoden der biochemischen Untersuchung der Pflanze (russ.). Selchosgis (1952).
5. FRITZ, F.: Zur Schnellbestimmung des Ölgehaltes von Leinsamen. Chemiker-Zeitung 59, 695 (1935).
6. FRÜHLING, R.: Z. f. angew. Chemie 242 (1889); Ref.: Z. anal. Chemie 30, 605 (1891).
7. HEIDUSCHKA, A., u. F. MUTH: Fettbe-

- stimmung in Kakaoerzeugnissen. Chemiker-Zeitung 52, 879 (1928).
8. ILLARIONOW, W., u. M. TORTSCHINSKI: Bestimmung der Jodzahl nach dem Lichtbrechungsindex (russisch). Öl- und Fett-Ind. 13, 23–25 (1937).
9. IWANOW, S.: Die Klimaten des Erdballs und die chemische Tätigkeit der Pflanzen. Fortschr. naturw. Forschung, N. F., H. 5 (1929); zitiert bei SCHMALFUSS u. MICHEEL 1935.
10. KALOYERAS, S., W. V. CRUESS u. B. E. LESLEY: Zwei neue Methoden zur Bestimmung des Öles in den Oliven. Journ. Pharm. Chim. 8, 407–415 (1928).
11. KUHLMANN, A. G.: Schnellextraktion. Ztschr. analyt. Chemie 72, 20–27 (1927).
12. LEITHE, W.: Über eine refraktometrische Makro- und Mikro-Schnellmethode zur Fettbestimmung in Ölsamen. Angew. Chemie 47, 734–736 (1934).
13. LEITHE, W.: Refraktometrische Fettbestimmung in Ölsaaten mit Bromnaphthalin. Z. Unters. Lebensmittel 71, 33–38 (1936).
14. LEITHE, W.: Die refraktometrischen Fettbestimmungsverfahren in der Praxis. Chemiker-Zeitung 65, 209 (1941).
15. LINTSCHUK, K. F.: Eine refraktometrische Methode zur Bestimmung von Fett in Nahrungsmitteln (russisch). Öl- und Fett-Ind. 17, 12–13 (1952).
16. MEARA, M. L.: Fats and other lipids. In: K. PAECH u. M. V. TRACEY, Moderne Methoden der Pflanzenanalyse. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1955.
17. SAITSCHENKO, P. S., u. W. P. RSHECHIN: Digestionsrefraktometermethode zur Bestimmung des Gesamtfettes in den Ölsamen und Ölkuchen (russisch). Analysenmeth. der Öl- u. Fett-Ind. 31–36 (1936).
18. SCHARER, K., u. H. LAMEL: Die refraktometrische Fettbestimmung in Ölsaaten nach dem Benzinverfahren. Landw. Versuchsstation 129, 164–170 (1938a).
19. SCHARER, K., u. H. LAMEL: Über die Ursachen der Analysenunterschiede zwischen der refraktometrischen und der gravimetrischen Fettbestimmungsmethode. Fette und Seifen 45, 262–266 (1938b).
20. SCHMALFUSS, K., u. H. MICHEEL: Über die Abhängigkeit der Beschaffenheit des Leinöls von der Mineralsalzernährung der Pflanzen. Angew. Botanik 17, 199–206 (1935).
21. SCHMALFUSS, K.: Experimentelle Studien zur Physiologie und Ernährung des Leins in Hinblick auf die Ausbildung von Faser und Öl. Bodenkunde und Pflanzenernährung 1, 1–19 (1936a).
22. SCHMALFUSS, K.: Ein Extraktionsapparat, insbesondere für kleinere Substanzmengen. Chem. Fabrik 9, 161–162 (1936b).
23. SCHUPHAN, W.: Methoden zur chemischen und biologischen Qualitätsbestimmung von gärtnerischen und landwirtschaftlichen Erzeugnissen. Neumann-Verlag, Radebeul-Berlin 1953.
24. SCHWARZE, P.: Methoden zur Ölbestimmung in der Pflanzenzüchtung. Ztschr. f. Pflanzenzüchtung 28, 23–43 (1949).
25. SENGBUSCH, R. v.: Eine züchterisch brauchbare Schnellmethode zur Bestimmung des Ölgehaltes von Samen und ihre erstmalige Anwendung bei der Züchtung der Öllupinen. Landw. Jahrbuch 91, 763–792 (1942).
26. SOXHLET, F.: Dinglers polytechn. Journal 232, 461 (1879). Ref.: Z. anal. Chemie 19, 365 (1880).

Aus dem Landesinstitut für Agrobotanik, Tápiószéle

## Befruchtungsuntersuchungen bei tetraploidem Rotklee\*

Von ANDOR JÁNOSSY

Nach der Luzerne ist der Rotklee die wichtigste Futterpflanze Ungarns. Das Anbauggebiet betrug im Mittel der Jahre 1950 bis 1960 200000 ha. Die wichtigsten Anbauflächen liegen in den westlichen und nördlichen, regenreichen Gebieten, in denen mehr als 600 mm Jahresniederschläge fallen. In den mittleren und östlichen Teilen des Landes wird der Rotklee überwiegend auf bewässerten Flächen angebaut.

\* Herrn Prof. Dr. OBERDORF zum 65. Geburtstag gewidmet.

In den an Österreich grenzenden Gebieten entstanden infolge des über ein Jahrhundert alten Anbaues viele örtliche Ökotypen, die auch heute noch Grundlage unserer erfolgreichen Rotkleezüchtung sind. Alle ungarischen Rotkleearten gehören der frühen, zweischürigen Typengruppe an und bringen beim Reinanbau schon im Ansaatzjahr Samenrerträge.

Trotz intensiver züchterischer Bemühungen gelang es in Ungarn nicht, neue Rotkleearten mit hoher Ertragsfähigkeit zu züchten, da die Landsorten auf