

Abschlussbericht

Untersuchungen zur Glykoalkaloid-Biosynthese in keimenden Speisekartoffeln zur weiteren Optimierung der Verbrauchersicherheit (KafGA)

Stand: März 2026

Abschlussbericht

Untersuchungen zur Glykoalkaloid-Biosynthese in keimenden Speisekartoffeln zur weiteren Optimierung der Verbrauchersicherheit (KafGA)

Berichtszeitraum: 01.08.2023 bis 31.10.2025

Max Rubner-Institut (MRI)
Bundeforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel

Institut für Sicherheit und Qualität bei Getreide

Dr. Bertrand Matthäus

Kooperationspartner
Prof. Dr. Renate Horn
Universität Rostock (URO)
Institut für Biowissenschaften
Abteilung Pflanzengenetik

Andreas Meyer
Versuchsstation Dethlingen (VSD)

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis	II
Abbildungsverzeichnis	II
1 Aufgaben und Ziele des Vorhabens.....	- 1 -
2 Wissenschaftlich technischer Stand, an den angeknüpft wurde.....	- 1 -
3 Ergebnisse.....	- 2 -
3.1 Anbau, Lagerung und Probennahme	- 2 -
3.2 Instrumentelle Analytik zur Quantifizierung der GA-Gehalte	- 4 -
3.2.1 Analyse der α -Formen der Glykoalkaloide mittels HPLC-DAD	- 4 -
3.2.2 LC-MS Analyse der GA mittels LC-MS/MS	- 5 -
3.3 GA-Gehalte in rohen und zubereiteten Kartoffeln	- 7 -
3.3.1 Quantifizierung der GA-Gehalte in rohen Kartoffeln mit unterschiedlichen Keimungsstadien	- 7 -
3.3.2 GA-Verteilungen in unterschiedlichen Keimungsstadien mittels bildgebender Massenspektrometrie	- 13 -
3.3.4 Einfluss der Zubereitung auf GA-Gehalte in Kartoffelknollen	- 20 -
3.4 Freie Monosaccharide und Saccharose.....	- 25 -
3.5 Molekularbiologische Untersuchungen (RNASeq, RT-qPCR).....	- 26 -
3.6 Schlussbetrachtung	- 34 -
3.6.1 Effekt der Keimung.....	- 34 -
3.6.2 Effekt der Zubereitung zum verzehrfähigen Produkt (Garen) auf GA-Gehalte....	- 35 -
4 Verwertung der Ergebnisse.....	- 35 -
5 Erklärung zur Ausgaben- und Zeitplanung	- 36 -
Literaturverzeichnis	- 38 -

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Unterteilung der Keimungsstadien zur Probenahme.	- 3 -
Tabelle 2:	Gradientenprogramm der LC-MS/MS Messung mit Eluent A = H ₂ O und Eluent B = Methanol, Flussrate: 0,4 mL/min.....	- 6 -
Tabelle 3:	Angepasste Meilensteinplanung.	- 36 -

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Aussehen der unterschiedlichen (A) Keimungsstadien, (B) rohen und (C) gegarten Kartoffeln sowie Kochwasserproben.	- 4 -
Abbildung 2:	(A) Chromatogramm der Reinsubstanzen α -Solanin und α -Chaconin sowie beispielhafter Kontrollproben (Schale, Kern) sowie (B) Versuchsproben mit bzw. ohne überlagerndem Störpeak (Artefakt) bei α -Solanin aus der HPLC-DAD Messung.....	- 5 -
Abbildung 3:	Chromatogramme der Reinsubstanzen α -Solanin, α -Chaconin, Solanidin (Aglykon) der LC-MS/MS Messung.....	- 6 -
Abbildung 4:	α -Solanin und α -Chaconin (mg/kg FM) in den fünf Keimungsstadien im Kern in zwei Versuchsjahren unterteilt nach Sorten mittels LC-MS/MS detektiert.....	- 8 -
Abbildung 5:	α -Solanin und α -Chaconin (mg/kg FM) in den fünf Keimungsstadien in der Schale in zwei Versuchsjahren unterteilt nach Sorten mittels HPLC-DAD detektiert.....	- 10 -
Abbildung 6:	α -Solanin und α -Chaconin (mg/kg FM) in den fünf Keimungsstadien in der Schale in zwei Versuchsjahren unterteilt nach Sorten mittels LC-MS/MS detektiert.....	- 11 -
Abbildung 7:	α -Solanin und α -Chaconin (mg/kg FM) in den Keimungsstadien 5 bis 7 in den Keimen in zwei Versuchsjahren unterteilt nach Sorten mittels HPLC-DAD detektiert.....	- 12 -
Abbildung 8:	α -Solanin und α -Chaconin (mg/kg FM) in den Keimungsstadien 5 (Sorte 3) sowie 5 bis 7 (Sorte 5) in den Keimen in zwei Versuchsjahren unterteilt nach Sorten mittels LC-MS/MS detektiert.	- 13 -
Abbildung 9:	Workflow der Probennahme (A), der Probenvorbereitung (B) und der Messung (C) in der bildgebenden Massenspektrometrie mittels bildgebender MALDI (Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation)-TOF (Time-of-Flight)-Massenspektrometrie.....	- 14 -
Abbildung 10:	Bildgebende Massenspektrometrie der 5 Sorten im höchsten Keimungsstadium (> 3 cm).	- 15 -

Abbildung 11:	Tandem-Massenspektrometrie der Haupt-GA α -Solanin (A) und α -Chaconin (B) in Kartoffelproben.....	- 16 -
Abbildung 12:	Gewebeverteilung des Glycoalkaloids α -Chaconin am Nabelende der Sorte 2 der höchsten Keimungsintensität (Kategorie 7) aus dem Anbaujahr 2021 verglichen mit dem Kronenende.....	- 17 -
Abbildung 13:	Bildgebende Massenspektrometrie der Haupt-GA in den Sorten 3 und 5 bei verschiedenen Keimungsintensitäten (Kategorie 3-7) aus dem Anbaujahr 2021.	- 18 -
Abbildung 14:	MALDI-MSI der Haupt-GA α -Solanin und α -Chaconin sowie des Aglykons Solanidin in den Sorten 3 (A) und 5 (B) in verschiedenen Keimungsstadien (Kategorie 2+4-7) aus dem Anbaujahr 2023.	- 19 -
Abbildung 15:	Einfluss der Zubereitung zu Pellkartoffeln und Salzkartoffeln auf den GA-Gehalt (Anbaujahr 2021, Keimstadium 7).	- 20 -
Abbildung 16:	Einfluss der Zubereitung zu Pellkartoffeln und Salzkartoffeln auf den GA-Gehalt (Anbaujahr 2023, Keimstadium 7).	- 21 -
Abbildung 17:	Vergleich der GA-Verteilung von α -Solanin und α -Chaconin sowie des Aglykons Solanidin in rohen und zu Pellkartoffeln verarbeiteten Kartoffeln.....	- 23 -
Abbildung 18:	Analyse der Eindringtiefe von α -Solanin in den Kern der Kartoffel.	- 24 -
Abbildung 19:	Freie Monosaccharide und Saccharose in Keimen und unter dem Einfluss der Zubereitung zu Pellkartoffeln und Salzkartoffeln (Anbaujahr 2023, Keimstadium 7, Sorte 5).	- 26 -
Abbildung 20:	Bohrkerne der Kartoffelknollen mit Darstellung der Probenahme.	- 27 -
Abbildung 21:	Hauptkomponentenanalyse (Principal Component Analyse, PCA) von allen sequenzierten Proben mit Markierung der Cluster für die Sorten und die Keimungsstadien 2, 5, 6 und 7.....	- 27 -
Abbildung 22:	Volcano Plot mit allen differenziell exprimierten Genen zwischen den Keimungsstadien 2 und 5 der Sorte 5.	- 28 -
Abbildung 23:	Heatmap der Log ₂ FoldChange Werte der 47 Kandidatengene der Steroid Glykoalkaloid Biosynthese.	- 30 -
Abbildung 24:	Expression der neun Kandidatengene in Keimungsstadium 2 gegenüber Keimungsstadium 5 aus dem Anbaujahr 2021.....	- 31 -
Abbildung 25:	Vergleich der Genexpression aller fünf Sorten in Keimungsstadium 5 für neun differentiell exprimierte Gene für das Anbaujahr 2021.	- 32 -
Abbildung 26:	Pipeline der SNP Analyse.....	- 33 -

Abbildung 27: Venn Diagramm über alle SNPs der Sorten 3 und 5 in den Anbaujahren 2021 und 2023..... - 34 -

Abbildung 28: Angepasster Balkenplan. - 37 -

1 Aufgaben und Ziele des Vorhabens

Die Akkumulation von Glykoalkaloiden (GA) und deren Derivaten in verschiedenen Geweben von keimenden Kartoffelknollen ist aufgrund der toxikologischen Bewertung dieser Stoffe von Interesse für die gesamte Wertschöpfungskette der Kartoffel (vom Feld bis zur Ladentheke). Ziel des Projektes ist es, Erkenntnisse über die Bildung von GA und deren Derivaten in keimenden Speisekartoffeln zu liefern. Es soll ein Modell (metabolische Karte) erarbeitet werden, das den Biosynthesemechanismus und die räumliche Verteilung der untersuchten Metabolite in der Knolle erklärt. Die molekularbiologischen Untersuchungen sollen Unterschiede in Kandidatengenomen aufzeigen, die über Markerentwicklung eine züchterische Reduktion der GA-Gehalte in den Knollen ermöglichen sollen. Zusätzlich soll untersucht werden, welche Veränderungen sich in der GA-Konzentration während der Zubereitung der Speisekartoffeln ergeben. Das so erlangte Verständnis kann genutzt werden, um eine Risikobewertung vorzunehmen und Minimierungsansätze zu entwickeln. Damit wird eine höhere Entscheidungssicherheit für die Verwendung von Speisekartoffeln mit beginnender Keimung erlangt und die Ressourceneffizienz gesteigert, da Knollen gezielter aussortiert werden können.

2 Wissenschaftlich technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Im Jahr 2023 wurden in Deutschland 11,6 Millionen Tonnen Kartoffeln geerntet [1]. Der aktuelle Pro-Kopf-Verbrauch von Speisekartoffeln und Kartoffelprodukten lag in Deutschland bei 63,5 kg pro im Wirtschaftsjahr 2023/2024, wobei Speisekartoffeln 25,5 kg ausmachten [1]. Sub-optimale Lagerungsbedingungen können zur Keimung der Knollen führen, wobei GA gebildet werden, die toxikologisch relevant sind [2, 3]. Aktuell findet eine Diskussion um die Reduktion des Schwellenwertes (von 200 mg/kg auf 100 mg/kg Frischmasse) oder sogar um die Einführung eines Richtwertes für GA in Kartoffeln statt [2]. Der Einfluss von Keimung auf GA-Gehalte wurde bereits in zahlreichen Studien gezeigt [4-7]. Ein Zusammenhang zwischen Keimungsintensität (Keimlänge) und GA-Gehalt wurde bislang aber noch nicht tiefergehend untersucht. Für eine bessere Ressourceneffizienz ist weiterführendes Wissen bezüglich der GA-Gehalte bei unterschiedlichen Keimungsintensitäten, sowie deren Änderungen während der Zubereitung nötig. Die Kenntnis der Verteilung der GA innerhalb der gekeimten Knolle (Mark/Kern, Periderm, Keime) ist essentiell, um nur belastete Teile der Knolle effizient zu entfernen. Dies wurde bislang in wenigen aktuellen Studien im Bereich der Grundlagenforschung gezeigt [6, 7], wobei hier nur ein limitierter Praxisbezug hergestellt werden kann. Distl [8] zeigte zwar in sektionierten Knollen die praxisrelevante Verteilung der beiden Haupt-GA, nutzte aber ungekeimte Knollen und fand die höchsten Gehalte im Bereich der Augen. In vielen Studien werden nur die mengenmäßig wichtigsten GA α -Solanin und α -Chaconin betrachtet [9, 10]. Weitere Metabolite wie z.B. β - und γ -Formen von Chaconin und Solanin, sowie deren Aglykon Solanidin sind bisher nur unzureichend untersucht, sollten aber für eine umfassende toxikologische Bewertung keimender Kartoffeln ebenfalls beachtet werden [3]. Bezüglich der GA-Biosynthese wurde in verschiedenen Studien bereits die Bildung des Aglykon [11], sowie die

nachfolgende Glykosylierung untersucht [12-14]. Das Aglykon (Solanidin) dient als Grundbaustein für die GA-Synthese und die Monosachharide (Glucose, Galactose und Rhamnose) werden mit dem Aglykon zu β - und γ -Derivaten kondensiert. Die Strukturen unterscheiden sich jeweils anhand der Zuckerreste. Molekulare Untersuchungen haben zur Identifizierung der am Glykoalkaloidstoffwechsel beteiligten Gene geführt [15]. Die steroidal Alkaloidglykosyltransferasen SGT1 und SGT2 spielen dabei eine wichtige Rolle für den Gehalt an α -Solanin und α -Chaconin [12, 16]. Kürzlich publizierte Arbeiten haben über genomweite Assoziationsstudien Quantitative Trait Loci (QTL) zu Glykoalkaloidgehalten in fünf Genombereichen (Chr. 1, Chr. 3, Chr. 5, Chr. 7 und Chr. 11) gefunden und zur Identifizierung einer 2-Oxogluterat abhängigen Dioxygenase geführt [17]. Die Arbeiten zeigen aber auch, dass noch weiterer Forschungsbedarf besteht, insbesondere, weil die meisten Untersuchungen an Blättern und nur wenige an Kartoffelknollen durchgeführt wurden [18].

3 Ergebnisse

Um zu gewährleisten, dass die im Forschungsvorhaben geplanten Arbeiten reibungslos und planmäßig starten können, fanden bereits vor dem Berichtszeitraum [Vorarbeiten](#) durch die Projektpartner (MRI, VSD, URO) mit der Universität Bielefeld statt. Dadurch stand bereits zum Projektstart ein umfangreicher Probensatz bestehend aus fünf in 2021 durch die VSD angebauten Speisekartoffelsorten (Lilly, Gala, Laura, Allians, Belana) verschiedener Kochtypen [19] für Analysen zur Verfügung. Die Sorten werden im weiteren Verlauf codiert und als Sorten 1 bis 5 bezeichnet.

3.1 Anbau, Lagerung und Probennahme

Zur Bestätigung der vorläufigen Ergebnisse aus der ersten Vegetationsperiode (2021), wurden die wirtschaftlich relevanten Sorten 3 und 5 selektiert und im Frühjahr 2023 (24.04.2023; Legeabstand 36 cm) in dreifacher Feldwiederholung in einem Sandboden (Dethlingen, Heidekreis) angebaut. Das Pflanzgut wurde von den jeweiligen Züchtungsunternehmen Solana GmbH & Co. KG und Nordring- Kartoffelzucht- und Vermehrungs-GmbH (Norika) bereitgestellt. Vorfrucht auf dem Schlag war Zuckerrübe und zur Bodenbearbeitung wurde gegrubbert und entsteint. Die Gesamtnährstoffzufuhr zum Boden betrug 123 kg/ha N, 70 kg/ha P₂O₅, 279 kg/ha K₂O und 35 kg/ha MgO. Zudem erfolgte eine Blattdüngung zu BBCH 55 mit den Mikronährstoffen Bor und Mangan. Pflanzenschutzmaßnahmen erfolgten praxisüblich für den konventionellen Anbau. Während der Kultivierung wurde unter Nutzung eines Düsenwagens nach Bedarf bewässert. Die Sorten wurden als Streifenanlage (je Sorte eine Parzelle; Parzellenlänge 140 m, Breite 0,75 m) angelegt, sodass eine nach Reifegruppe individuelle Krautminderung technisch nicht realisierbar war. Die Krautminderung wurde mit drei chemischen Maßnahmen durchgeführt. Alle Sorten zeigten zum Zeitpunkt der Krautminderung Abreifeerscheinungen, die aber nach Sorten/Reifegruppen etwas unterschiedlich ausfiel. Die Rodung erfolgte am 18.09.2023. Nachdem Über- und Untergrößen aussortiert (Sortierung 35-65 mm) wurden, erfolgte die

Wundheilungsphase von etwa drei Wochen bei Raumtemperatur und unter Lichtabschluss. Anschließend wurden die Knollen verpackt und am 11.10.2023 zum MRI nach Detmold versandt. Die anschließende Lagerung bei 4°C und 90 %rF erfolgte analog zum ersten Anbaujahr am MRI. Dort wurden die Kartoffeln zum Keimen gebracht und im Berichtszeitraum zu unterschiedlichen Zeitpunkten entsprechend des gewünschten Keimungsstadiums beprobt (Tabelle 1 und Abbildung 1A).

Tabelle 1: Unterteilung der Keimungsstadien zur Probenahme.

Keimungsstadium	Erklärung
1	Direkt nach der Ernte, ungekeimt
2	Nach 2 - 3 Monaten Lagerung bei 4°C, ungekeimt
3	3 Tage nach Erhöhung der Temperatur auf 18-20°C, ungekeimt
4	Beginnende Keimung, Spitzen < 3 mm
5	Keime < 10 mm
6	Keime 10 - 30 mm
7	Keime > 30 mm

Jeweils direkt nach der Ernte (Keimungsstadium 1) sowie nach 2 Monaten Lagerung bei 4°C und 90 %rF (Keimungsstadium 2) wurden ungekeimte Knollen beprobt, um den Ausgangszustand zu erfassen. Da die Proben ohne Keimhemmungsmittel gelagert wurden, war im Dezember 2023 bei einer der Sorten bereits eine beginnende Keimung zu erkennen. Um den Zustand der Knollen bei einsetzender Keimung zu erfassen wurde bei dieser Sorte zu diesem Zeitpunkt auch Stadium 4 (Spitzen) früher als geplant beprobt (bereits im Dezember 2023). Um die weitere Keimung zu forcieren wurde Anfang März 2024 die Lagertemperatur erhöht (20°C), so dass die weiteren Keimungsstadien beider Sorten zeitnah beprobt werden konnten.

Aus den Knollen wurden analog zum Anbaujahr 2021 (Vorarbeiten) verschiedene Proben gezogen: (i) Rohstoffe: unterteilt nach Sektionen in Schale/Periderm, Kern/Mark und Keime (Abbildung 1B);

(ii) Garversuche: Pellkartoffeln (Pelle, Kern), Salzkartoffeln (geschält) sowie das Kochwasser (Abbildung 1C);

(iii) Bohrkern von rohen Knollen für molekularbiologische Arbeiten an der URO sowie für das MALDI-TOF-Imaging an der Universität Bielefeld zusätzlich zu den rohen Knollen in 2023 auch aus gegarten Pellkartoffeln (vgl. Abbildung 9A und Abbildung 20).

Sämtliche Proben wurden stabilisiert (-80°C, -18°C bzw. gefriergetrocknet, vermahlen und trocken/dunkel gelagert) zur Verwendung für die Analysen.

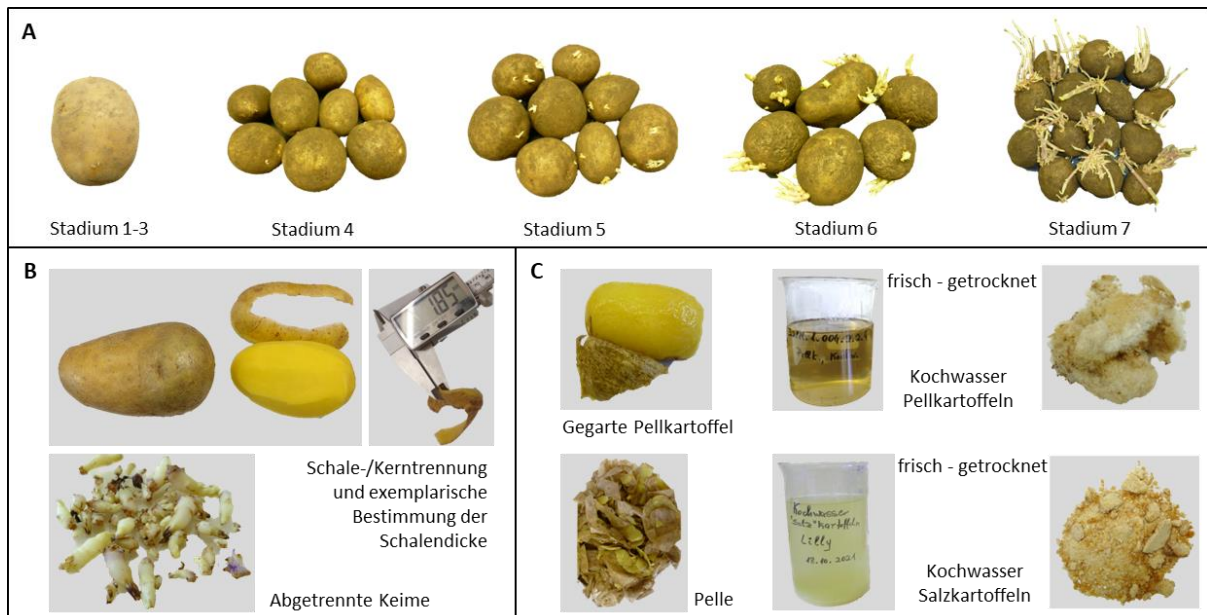


Abbildung 1: Aussehen der unterschiedlichen (A) Keimungsstadien, (B) rohen und (C) gegarten Kartoffeln sowie Kochwasserproben.

3.2 Instrumentelle Analytik zur Quantifizierung der GA-Gehalte

Zur Quantifizierung der GA-Gehalte wurden übereinstimmend mit den Vorgaben der Empfehlung der Europäischen Kommission [20] zwei Analysemethoden angewandt, die in den folgenden Kapiteln dargestellt werden. Zum einen wurden die beiden α -Formen der GA mittels Hochdruckflüssigchromatographie (HPLC) gekoppelt mit einem Diodenarray-Detektor (DAD; Jasco), der im ultravioletten Bereich (UV) Signale der Analyten erfasst, gearbeitet. Dieses Analysesystem wird im Folgenden als HPLC-DAD bezeichnet. Zum anderen wurde mit einem Ultra-Fast Liquid Chromatography (UFLC) System gearbeitet, welches an ein MS/MS (Triple-Quadrupole Massenspektrometer) gekoppelt ist und im Folgenden als LC-MS/MS (Shimadzu) bezeichnet wird. Das letztgenannte System bietet höhere Empfindlichkeiten und geringere Anfälligkeit Unempfindlichkeit gegenüber Störsubstanzen in der Matrix. Hiermit ist bei Kalibrierung mit kommerziell erhältlichen Reinsubstanzen der Analyten ebenfalls die Quantifizierung weiterer Substanzen wie dem Aglykon Solanidin oder γ -Chaconin möglich.

3.2.1 Analyse der α -Formen der Glykoalkaloide mittels HPLC-DAD

Die Analyse der α -Formen der Glykoalkaloide erfolgte am MRI mittels HPLC-DAD nach Hellenäs et al. [21]. Nach Extraktion in einem Gemisch aus Wasser/Essigsäure/Natriumbisulfid (95:5:0,5) wurde die Probe zentrifugiert und mit Hilfe eines Faltenfilters filtriert. Zur

weiteren Aufreinigung erfolgte eine Festphasenextraktion und eine anschließende Filtration über einen Nylon Filter (45 µm). Die Analyse an der HPLC wurde isokratisch unter Verwendung einer C-18-Vorsäule (Security Guard, C18, Phenomenex) und C-18-Trennsäule (HyperClone 5 ODS, C18, Phenomenex, 150x 4,6 mm) mit anschließender UV-Detektion bei 202 nm (DAD) vorgenommen. Als Eluent diente Acetonitril/Kaliumphosphat-Puffer (pH=7,6) im Verhältnis 55:45. Abbildung 2 kann entnommen werden, dass eine ausreichende Trennung der Analyten bereits innerhalb der ersten vier Minuten erfolgt. In dem linken Teil der Abbildung (Abbildung 2A) erkennt man die zeitliche Trennung der Signale der Reinsubstanzen (Kalibrierstandard), sowie die erfolgreiche Signaltrennung zweier Kontrollproben aus Kartoffelschale und Kartoffelkern. Im rechten Teil der Abbildung dagegen sieht man eine Überlagerung des Solaninsignals mit einem Artefakt einer Kartoffelkernprobe der Sorte 1, Termin 4 (Abbildung 2B). Derartige Befunde des Solaningehaltes durch Peaküberlagerung fielen erst bei dem Vergleich mit den LC-MS/MS Ergebnissen auf und beschränken sich auf einzelne Kartoffelkernproben. Aufgrund dieser Problematik wird auf die Ergebnisdarstellung der Kernproben mittels HPLC-DAD, wie sie im 1. Zwischenbericht erfolgte im vorliegenden Abschlussbericht verzichtet.

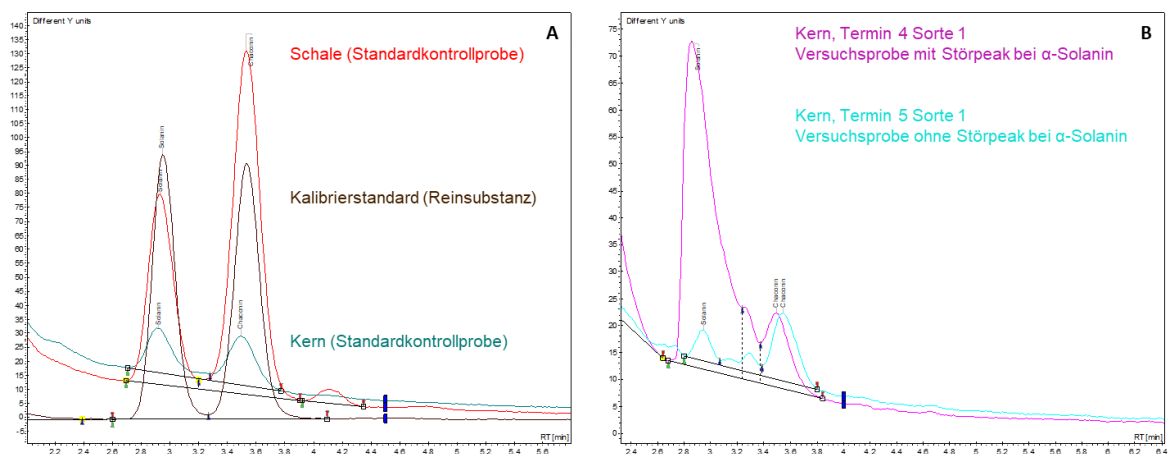


Abbildung 2: (A) Chromatogramm der Reinsubstanzen α -Solanin und α -Chaconin sowie beispielhafter Kontrollproben (Schale, Kern) sowie (B) Versuchssproben mit bzw. ohne überlagerndem Störpeak (Artefakt) bei α -Solanin aus der HPLC-DAD Messung.

3.2.2 LC-MS Analyse der GA mittels LC-MS/MS

Entgegen der ursprünglichen Planungen wurden stattdessen die Analysen mittels LC-MS/MS am MRI vorgenommen. Vor der Analyse der Glykoalkaloide mit LC-MS/MS erfolgte eine Extraktion nach Raters et al. [22]. Hierzu wurde die gefriergetrocknete Probe in Ethanol mit 5% Essigsäure im Ultraschallbad extrahiert und nach Zentrifugation über einen PTFE Filter (20 µm) filtriert. Im Gegensatz zur Probenvorbereitung für die HPLC-DAD Detektion wurde auf eine Aufreinigung mittels SPE verzichtet. Als Trennsäule diente die

Phenomenex Phenyl-Hexyl 5 µm 150 x 2 mm, die in einem Säulenofen auf 35°C erwärmt wurde. Die Trennung der Substanzen erfolgte mit einer UFLC und die Detektion mit einem Triple-Quadrupole MS von Shimadzu. Tabelle 2 zeigt das verwendete Gradientenprogramm.

Tabelle 2: Gradientenprogramm der LC-MS/MS Messung mit Eluent A = H₂O und Eluent B = Methanol, Flussrate: 0,4 mL/min.

Zeit (min)	Eluent A (%)	Eluent B (%)
0	100	0
3	50	50
12	50	50
13	90	10
15	90	10

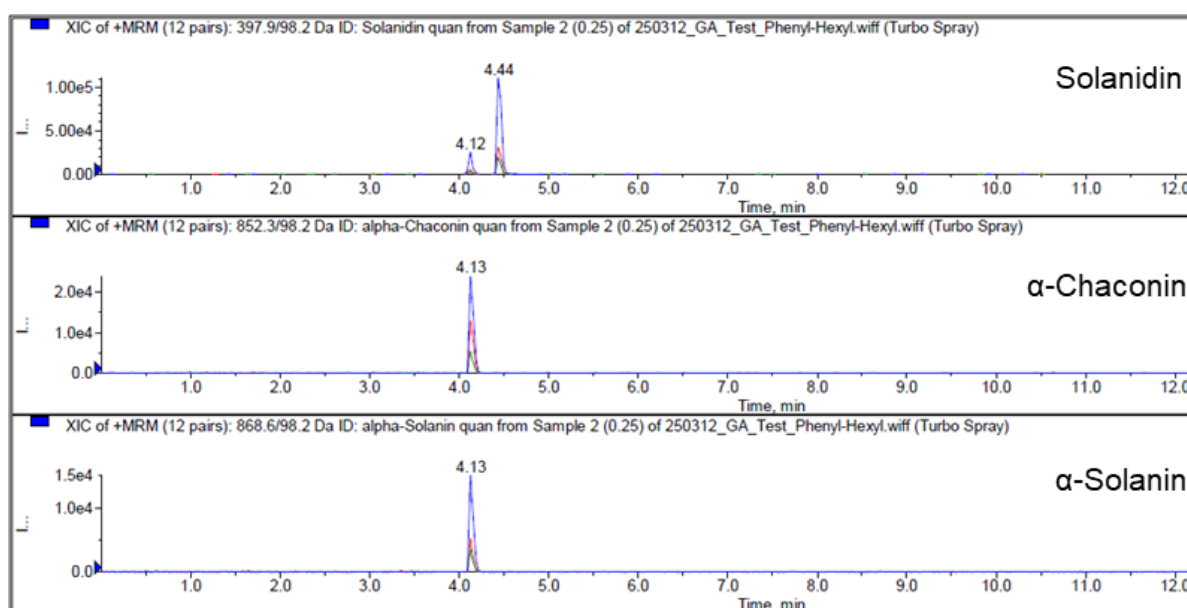


Abbildung 3: Chromatogramme der Reinsubstanzen α-Solanin, α-Chaconin, Solanidin (Aglykon) der LC-MS/MS Messung.

Abbildung 3 zeigt die Peaks der kommerziell erhältlichen Einzelsubstanzen in den LC-Chromatogrammen. Es konnten alle kommerziell erhältlichen Analyten getrennt werden. Beim Aglykon Solanidin ist ein Satellitenpeak vorhanden. Die Auswertung der Solanidin-Signale konnte innerhalb der Projektlaufzeit aufgrund technischer Probleme nicht

vollständig abgeschlossen und eine Kalibrierung mit γ -Chaconin nicht realisiert werden. Weitere relevante Reinsubstanzen sind kommerziell nach derzeitigem Kenntnisstand nicht erhältlich.

3.3 GA-Gehalte in rohen und zubereiteten Kartoffeln

3.3.1 Quantifizierung der GA-Gehalte in rohen Kartoffeln mit unterschiedlichen Keimungsstadien

Die GA-Gehalte der rohen Kartoffeln wurden entlang der Keimungsstadien aus zwei Anbaujahren (2021 und 2023) untersucht und ausgewertet. Zur besseren Vergleichbarkeit werden im Folgenden die Ergebnisse beider Anbaujahre zusammen dargestellt. Die Konzentrationsveränderungen der α -Formen der Glykoalkaloide in Abhängigkeit der Keimung bestimmt mittels LC-MS/MS bzw. wenn als sinnvoll erachtet auch mittels HPLC-DAD werden in den Abbildung 4 bis Abbildung 8 dargestellt. Hierbei wird die Entwicklung in den unterschiedlichen Sektionen der Kartoffel (Kern, Schale, Keime) bei allen fünf Sorten, in den Keimungsstadien 2, 4, 5, 6 und 7 betrachtet. In 2021 wurden lediglich drei technische Replikate der Probenaufbereitung und Messung aus einer biologischen Probe untersucht. Dadurch sind statistische Aussagen zum Einfluss der Keimung auf die GA-Gehalte im ersten Versuchsjahr limitiert.

3.3.1.1 GA-Gehalte im Kern der Kartoffel

Der Gesamt GA-Gehalt aller Sorten (Summe aus α -Solanin und α -Chaconin) ermittelt mit LC-MS/MS liegt für beide Jahre im Kern zwischen 4,8 mg/kg und 26,6 mg/kg FM (Abbildung 4) und somit deutlich unter dem Gehalt in der Schale (Abbildung 5 und Abbildung 6). Mit zunehmender Keimungsintensität kommt es innerhalb jeder Sorte im Kern zu Unterschieden im GA-Gehalt zwischen den Keimungsstadien (Abbildung 4). Die Sorten 1 und 2 zeigen tendenziell abnehmende GA-Gehalte, während die Sorten 3 bis 5 keinen eindeutigen Trend mit zunehmender Keimungsintensität im ersten Jahr aufweisen. Statistisch absichern lässt sich vor allem im zweiten Versuchsjahr eine Abnahme im GA-Gehalt gegenüber dem ungekeimten Zustand von bis zu 52% im Kern der rohen Kartoffeln bei über 3 cm langen Keimen, während ein schwach signifikanter Anstieg bei Sorte 3 lediglich bei dem Erreichen einer Keimlänge von 1 cm zu beobachten ist. Insgesamt kann bei den untersuchten Sorten kein eindeutiger und über zwei Jahre reproduzierbarer Nachweis eines GA-Anstiegs bzw. einer GA-Abnahme im Kern der Kartoffeln durch die Keimung festgestellt werden.

Berechnet man das Verhältnis von α -Solanin zu α -Chaconin so sticht Sorte 3 mit Werten über 1 hervor (1,3 bis 1,6). Sorte 3 weist somit in beiden Jahren deutlich geringere α -Chaconingehalte als Sorte 5 auf, woraus sich ein kleineres Verhältnis von α -Solanin zu α -Chaconin für Sorte 5 von 0,6 bis 0,8 ergibt. Da α -Chaconin eine höhere Toxizität aufweist als α -Solanin [2, 23], ist diese Beobachtung relevant für eine toxikologische Einschätzung.

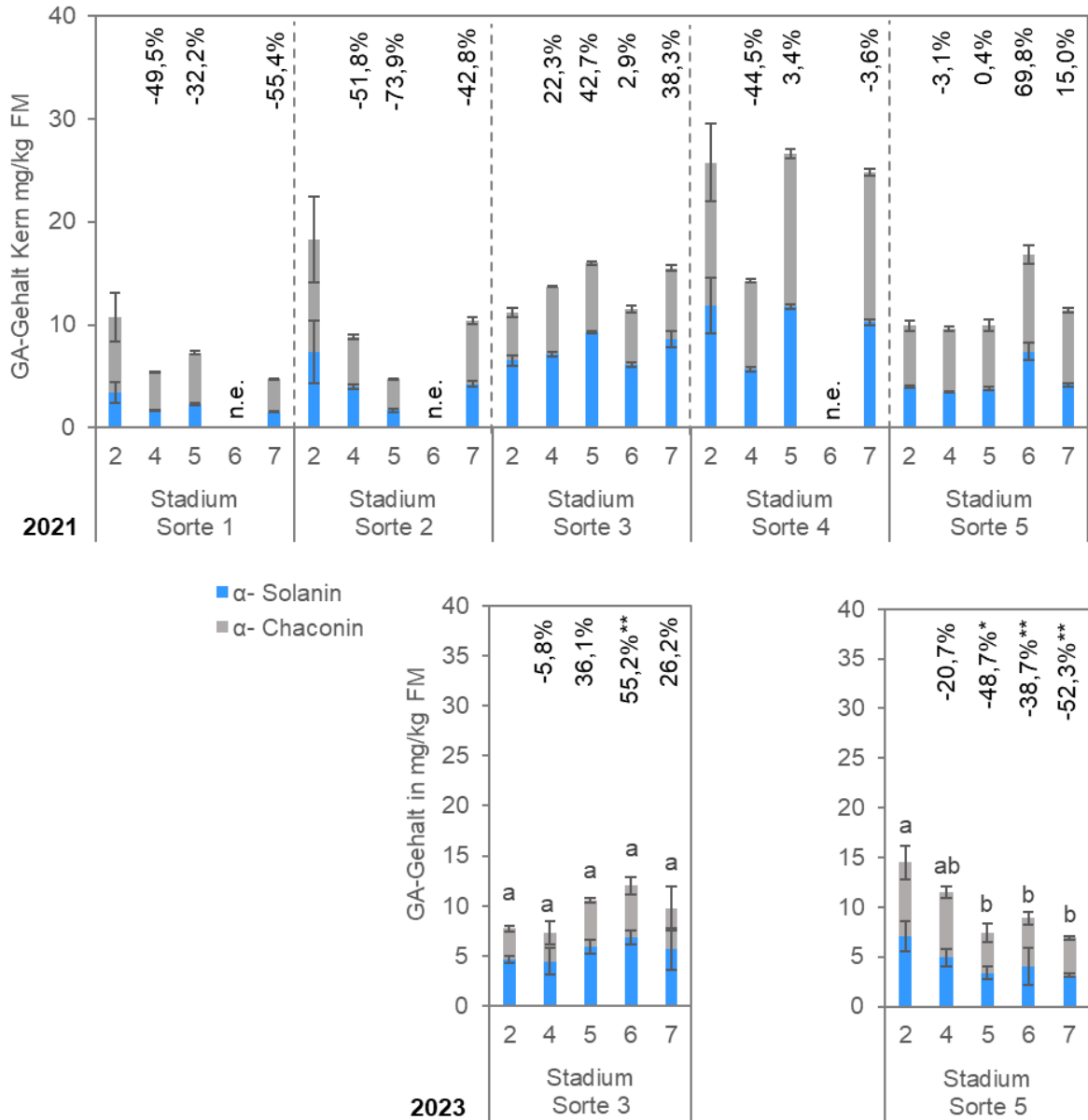


Abbildung 4: α-Solanin und α-Chaconin (mg/kg FM) in den fünf Keimungsstadien im Kern in zwei Versuchsjahren unterteilt nach Sorten mittels LC-MS/MS detektiert. In 2021 sind Werte als Mittelwerte (MW) ± Standardabweichung (SD) aus drei technischen Replikaten angegeben (n=3). Es wurde kein statistischer Vergleich berechnet. Für 2023 ist der MW ± SD aus drei bio-logischen Wiederholungen dargestellt. Zwischen den Werten innerhalb einer Sorte, die mit unterschiedlichen Buchstaben gekennzeichnet sind, bestehen signifikante Unterschiede ($p > 0,05$) in der Summe aus α-Solanin und α-Chaconin. Prozentuale Angaben über den Balken zeigen die Veränderung der GA-Konzentration vom ungekeimten Zustand zum jeweiligen Keimungsstadium (signifikante Veränderungen in 2023 * $p < 0,05$ bzw. ** $p < 0,01$, Tukey-Test). n.e. nicht ermittelt.

Die GA-Gehalte der HPLC-DAD Messungen schwanken gerade in 2021 in den Kernproben zwischen den Keimungsstadien sehr stark, was vor allem auf vermutete Störpeaks bei der Detektion von α -Solanin zurückzuführen ist. Aus diesem Grund wird auf die Darstellung der HPLC-UV Daten für die Kern-Proben verzichtet und lediglich die LC-MS/MS Daten werden verwendet.

3.3.1.2 GA-Gehalte in der Schale

In der Schale werden generell höhere GA-Gehalte gefunden als in den Kernen der rohen Kartoffelknollen. Die Gehalte (Summe aus α -Solanin und α -Chaconin) liegen zwischen 70 und 355 mg/kg FS (HPLC-DAD, 2 Jahre, alle Sorten) bzw. 239 und 311 mg/kg FS (LC-MS/MS, 2 Jahre nur Sorten 3 und 5) (Abbildung 5 und Abbildung 6). Über alle Sorten und Jahre werden in den Schalen sowohl Zunahmen als auch Abnahmen oder gleichbleibende α -Solanin und α -Chaconin-Gehalte im Verlauf der Keimung nachgewiesen (Abbildung 5). Betrachtet man beispielsweise Sorte 3 im zweiten Versuchsjahr so findet zu Keimungsstadium 5 (bis 1 cm lange Keime) eine Zunahme und zum darauffolgenden Keimungsstadium eine Abnahme statt (Abbildung 6). Sorte 5 dagegen zeigt tendenziell in 2021 Zunahmen der GA-Gehalte durch die Keimung, während im Jahr 2023 mittels LC-MS/MS Detektion signifikante Abnahmen durch zunehmende Keimungsintensität zu verzeichnen sind.

Es kann festgehalten werden, dass ebenso wie für die Kernproben auch für die Schalen der rohen Kartoffeln kein eindeutiger und reproduzierbarer Effekt durch die zunehmende Keimungsintensität nachgewiesen werden kann. Aussagen können nur auf das untersuchte Sortenset bezogen werden und die Ergebnisse erlauben keine Ausweitung dieser Aussagen auf andere Sorten.

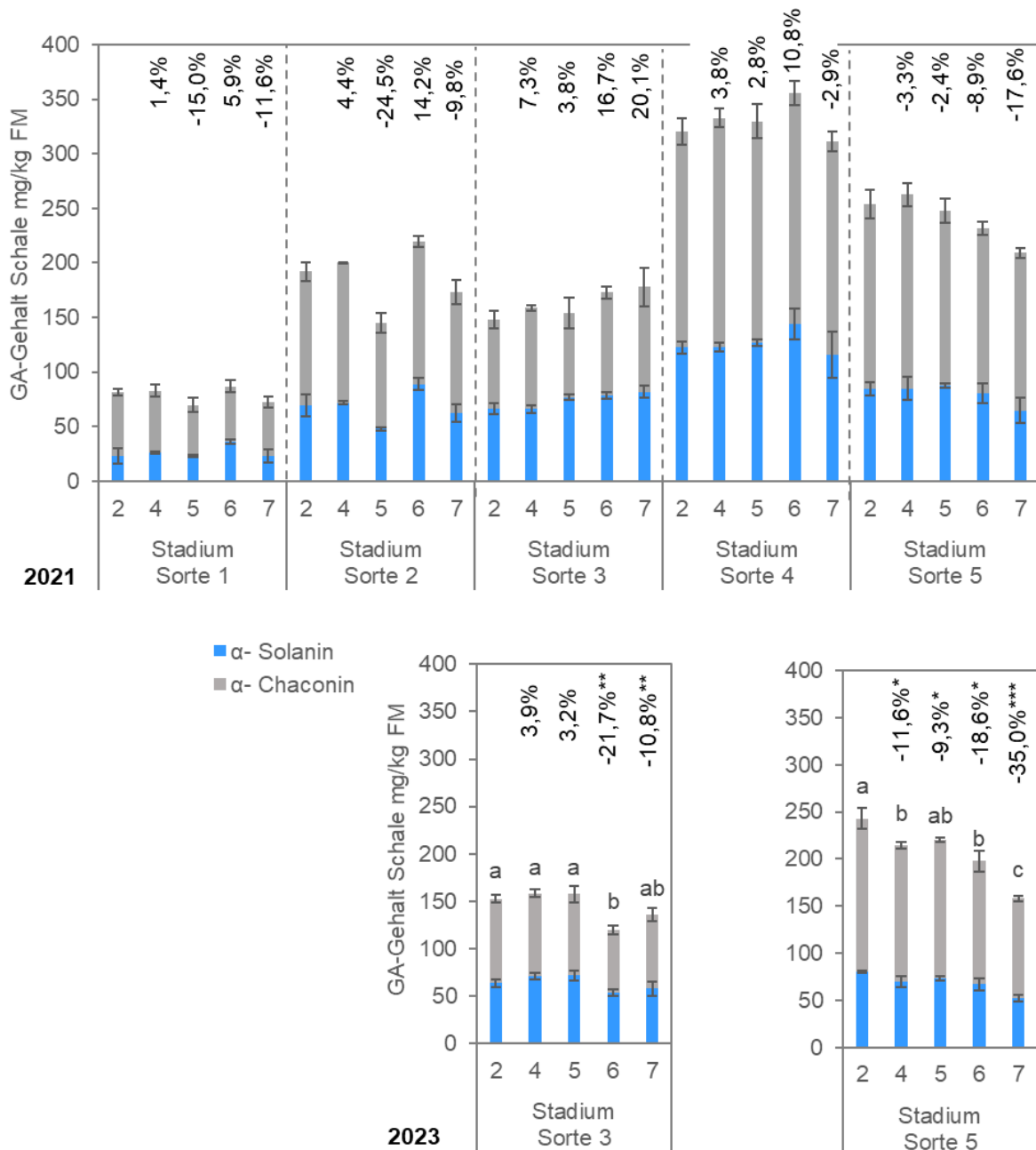


Abbildung 5: α -Solanin und α -Chaconin (mg/kg FM) in den fünf Keimungsstadien in der Schale in zwei Versuchsjahren unterteilt nach Sorten mittels HPLC-DAD detektiert. In 2021 sind Werte als Mittelwerte (MW) \pm Standardabweichung (SD) aus drei technischen Replikaten angegeben (n=3). Es wurde kein statistischer Vergleich berechnet. Für 2023 ist der MW \pm SD aus drei biologischen Wiederholungen dargestellt. Zwischen den Werten innerhalb einer Sorte, die mit unterschiedlichen Buchstaben gekennzeichnet sind, bestehen signifikante Unterschiede ($p > 0,05$) in der Summe aus α -Solanin und α -Chaconin. Prozentuale Angaben über den Balken zeigen die Veränderung der GA-Konzentration vom ungekeimten Zustand zum jeweiligen Keimungsstadium (signifikante Veränderungen in 2023 * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ bzw. *** $p < 0,001$, Tukey-Test).

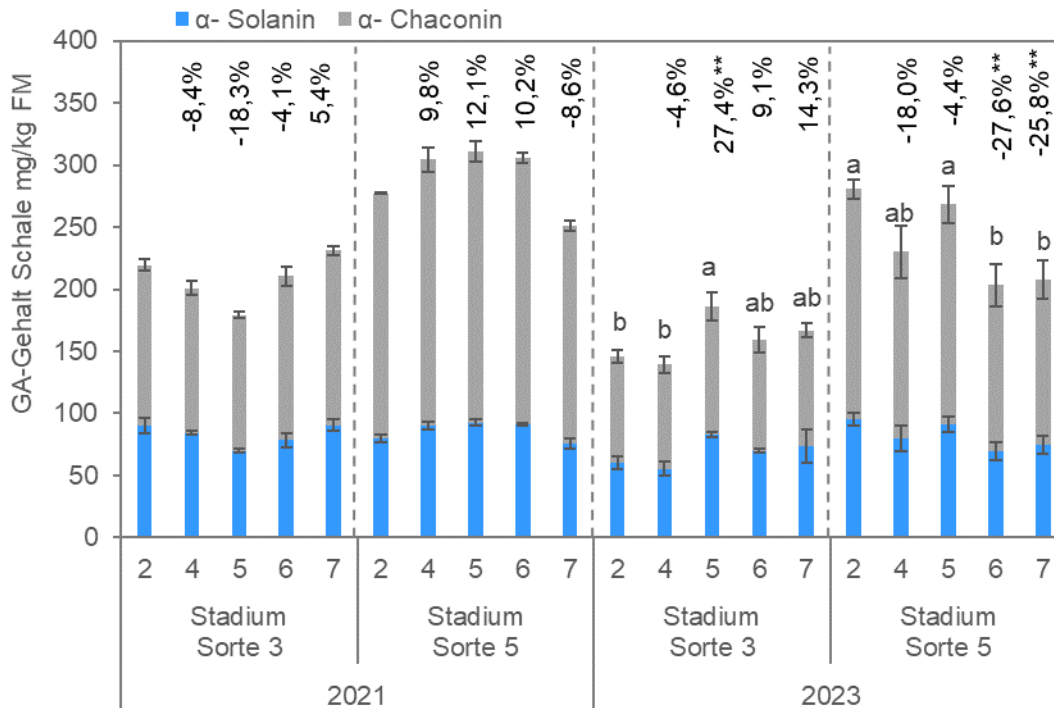


Abbildung 6: α-Solanin und α-Chaconin (mg/kg FM) in den fünf Keimungsstadien in der Schale in zwei Versuchsjahren unterteilt nach Sorten mittels LC-MS/MS detektiert. In 2021 sind Werte als Mittelwerte (MW) ± Standardabweichung (SD) aus drei technischen Replikaten angegeben (n=3). Es wurde kein statistischer Vergleich berechnet. Für 2023 ist der MW ± SD aus drei biologischen Wiederholungen dargestellt. Zwischen den Werten innerhalb einer Sorte, die mit unterschiedlichen Buch-staben gekennzeichnet sind, bestehen signifikante Unterschiede ($p > 0,05$) in der Summe aus α-Solanin und α-Chaconin. Prozentuale Angaben über den Balken zeigen die Veränderung der GA-Konzentration vom ungekeimten Zustand zum jeweiligen Keimungsstadium (signifikante Veränderungen in 2023 $**p < 0,01$, Tukey-Test).

3.3.1.3 GA-Gehalte in den Keimen

Es wird grundsätzlich empfohlen und davon ausgegangen, dass gekeimte Knollen vor dem Verzehr entkeimt werden und die Betrachtung der Keime somit eine geringere Relevanz für den Verbraucher aufweist. Um die toxikologische Relevanz eines möglichen Verzehrs der Keime zu verdeutlichen und um den Bildungsmechanismus besser zu verstehen, wurden Keime ebenfalls auf GA-Gehalte hin untersucht. Erst ab Stadium 5 (bis 1 cm Keimlänge) stand ausreichend Material für Analysen zur Verfügung; Spitzen des Stadiums 4 konnten bei der Betrachtung nicht berücksichtigt werden und besitzen bei der Untersuchung der Schale (Abbildung 5 und Abbildung 6) Relevanz.

Die Analyse der GA (Summe aus α-Solanin und α-Chaconin) in den Keimen der Stadien 5, 6 und 7 ergeben Gehalte zwischen 6080 und 14644 mg/kg FS (HPLC-DAD, 2 Jahre, alle Sorten) bzw. 7069 und 19207 mg/kg FS (LC-MS/MS, 2 Jahre nur Sorte 3*Stadium 5 und Sorte 5*Stadien 5 bis 7) (Abbildung 7 und Abbildung 8). In allen Sorten nimmt der GA-

Gehalt in den Keimen mit zunehmender Keimungsintensität signifikant um bis zu 57,8% (Abbildung 7) ab.

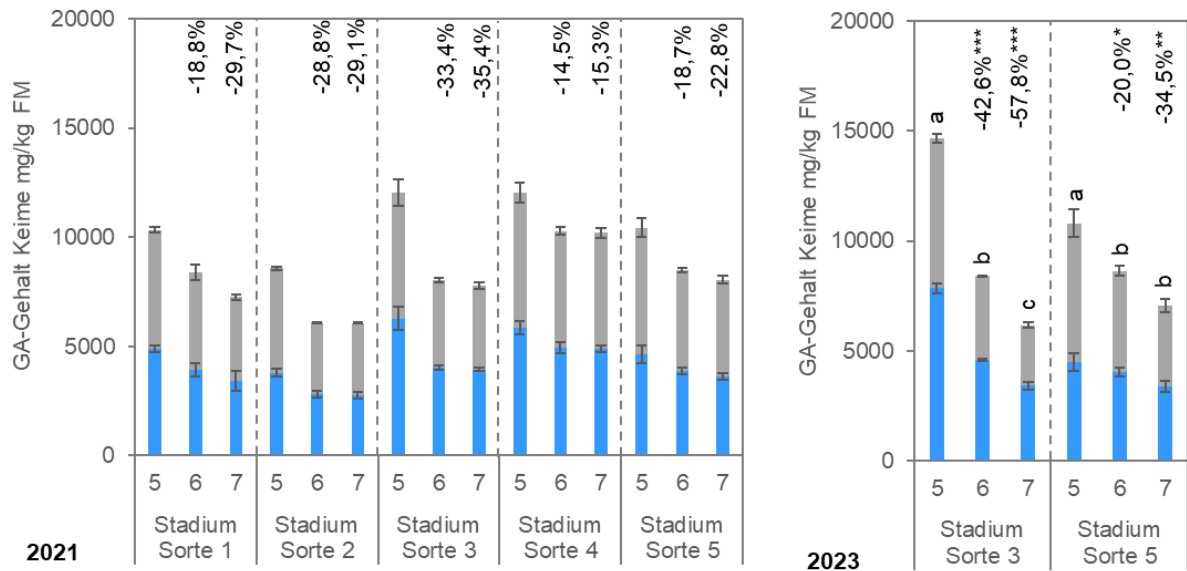


Abbildung 7: α -Solanin und α -Chaconin (mg/kg FM) in den Keimungsstadien 5 bis 7 in den Keimen in zwei Versuchsjahren unterteilt nach Sorten mittels HPLC-DAD detektiert. In 2021 sind Werte als Mittelwerte (MW) \pm Standardabweichung (SD) aus drei technischen Replikaten angegeben (n=3). Es wurde kein statistischer Vergleich berechnet. Für 2023 ist der MW \pm SD aus drei biologischen Wiederholungen dargestellt. Zwischen den Werten innerhalb einer Sorte, die mit unterschiedlichen Buchstaben gekennzeichnet sind, bestehen signifikante Unterschiede ($p > 0,05$) in der Summe aus α -Solanin und α -Chaconin. Prozentuale Angaben über den Balken zeigen die Veränderung der GA-Konzentration vom ungekeimten Zustand zum jeweiligen Keimungsstadium (signifikante Veränderungen in 2023 * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ bzw. *** $p < 0,001$, Tukey-Test).

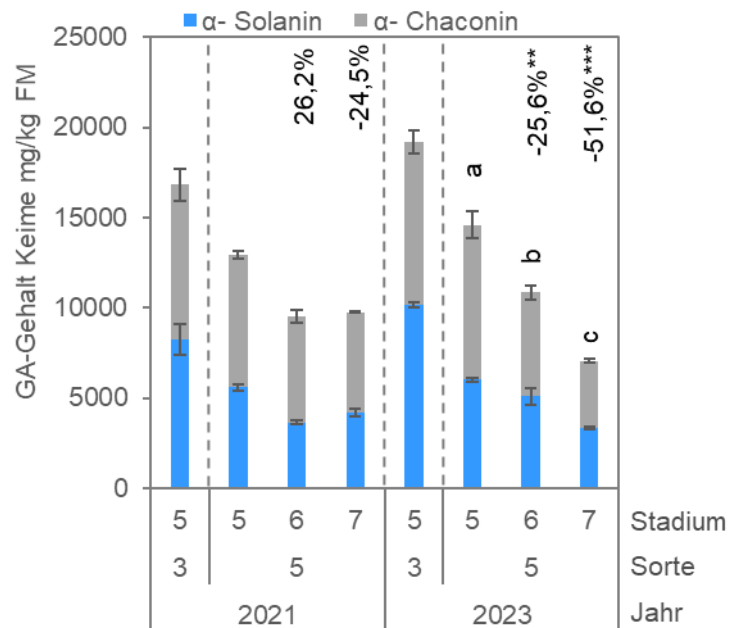


Abbildung 8: α -Solanin und α -Chaconin (mg/kg FM) in den Keimungsstadien 5 (Sorte 3) sowie 5 bis 7 (Sorte 5) in den Keimen in zwei Versuchsjahren unterteilt nach Sorten mittels LC-MS/MS detektiert. In 2021 sind Werte als Mittelwerte (MW) \pm Standardabweichung (SD) aus drei technischen Replikaten angegeben (n=3). Es wurde kein statistischer Vergleich berechnet. Für 2023 ist der MW \pm SD aus drei biologischen Wiederholungen dargestellt. Zwischen den Werten innerhalb einer Sorte, die mit unterschiedlichen Buchstaben gekennzeichnet sind, bestehen signifikante Unterschiede ($p > 0,05$) in der Summe aus α -Solanin und α -Chaconin. Prozentuale Angaben über den Balken zeigen die Veränderung der GA-Konzentration vom ungekeimten Zustand zum jeweiligen Keimungsstadium (signifikante Veränderungen in 2023 ** $p < 0,01$, Tukey-Test).

3.3.2 GA-Verteilungen in unterschiedlichen Keimungsstadien mittels bildgebender Massenspektrometrie

Um die räumliche Verteilung relevanter Metaboliten im GA-Metabolismus detaillierter zu zeigen stellt die bildgebende Massenspektrometrie ein geeignetes Verfahren dar. Diese wird als Erweiterung zu den quantitativen zielgerichteten Verfahren, HPLC-DAD und LC-MS/MS, die im Projekt für die Detektion der GA in sektionierten Kartoffeln genutzt werden, angewandt. Hierbei werden analog zu den quantitativen zielgerichteten Verfahren vor allem die beiden Glycoalkaloide mit höchster Abundanz in Kartoffeln, α -Solanin und α -Chaconin, sowie das Solanidin betrachtet. Wie geplant wurden die semi-quantitativen Analysen mittels MALDI-Imaging bei der Universität Bielefeld (IIT GmbH) in Auftrag gegeben. Zur Analyse der in situ Verteilung der Haupt-GA α -Solanin und α -Chaconin und möglicher weiterer relevanter Metaboliten wurden in diesem Projekt verschiedene bildgebende massenspektrometrische Verfahren genutzt. Dafür wurden die Kartoffeln zu den beschriebenen Zeitpunkten, sowohl als Rohstoff und verarbeitet als Pellkartoffel, beprobt, indem 1x1

cm dicke Stenzen erstellt wurden (Abbildung 9A und Abbildung 9B). Die bildgebende massenspektrometrische Analytik erfolgte via MALDI-qToF-MSI mit Hilfe des Massenspektrometers timsTOF fleX (Bruker Daltonics) (Abbildung 9C).

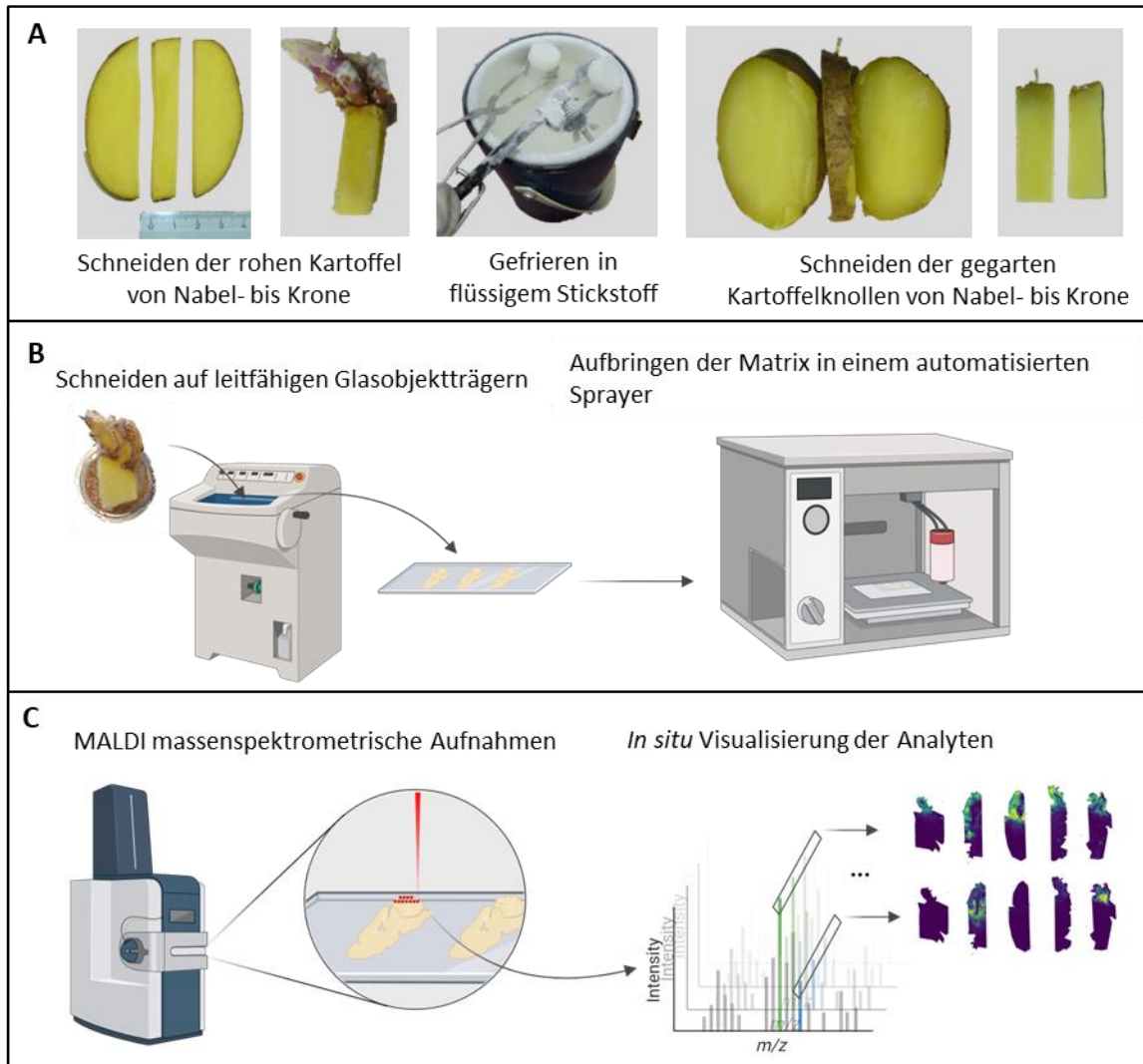


Abbildung 9: Workflow der Probennahme (A), der Probenvorbereitung (B) und der Messung (C) in der bildgebenden Massenspektrometrie mittels bildgebender MALDI (Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation)-TOF (Time-of-Flight)-Massenspektrometrie.

3.3.2.1 Vorversuche zur bildgebenden Analyse der GA in Kartoffelknollen

Um die Verteilung der Haupt-GA α -Solanin und α -Chaconin und möglicher weiterer relevanter Metabolite *in situ* zu analysieren, wurden bildgebende massenspektrometrische Verfahren genutzt. Zunächst wurde ein Vorversuch an den fünf Sorten zu Keimungsstadium 7 aus Anbaujahr 2021 durchgeführt. Dabei wurden die zwei Haupt-GA α -Solanin und α -Chaconin detektiert. Die Messungen der Proben bei spätem Keimungsstadium zeigen eine deutliche Akkumulation der GA im Bereich der Keime (Abbildung 10).

Übereinstimmend mit den Ergebnissen aus Kapitel 3.2.2 zeigt sich in jeder Sorte eine deutlich geringere Signalintensität der GA im Kern der Knolle, verglichen mit dem Keim. Die Verteilung der GA in den Keimen ist nicht homogen, sondern scheint mit morphologischen Strukturen zu korrelieren. Auch unterscheiden sich die Verteilungen von α -Solanin und α -Chaconin in den Keimen und sind nicht vollständig co-lokalisiert. Ihre Verteilungsmuster weichen insbesondere in tieferen Keimregionen voneinander ab, wobei α -Chaconin dort eine höhere Signalintensität aufweist.

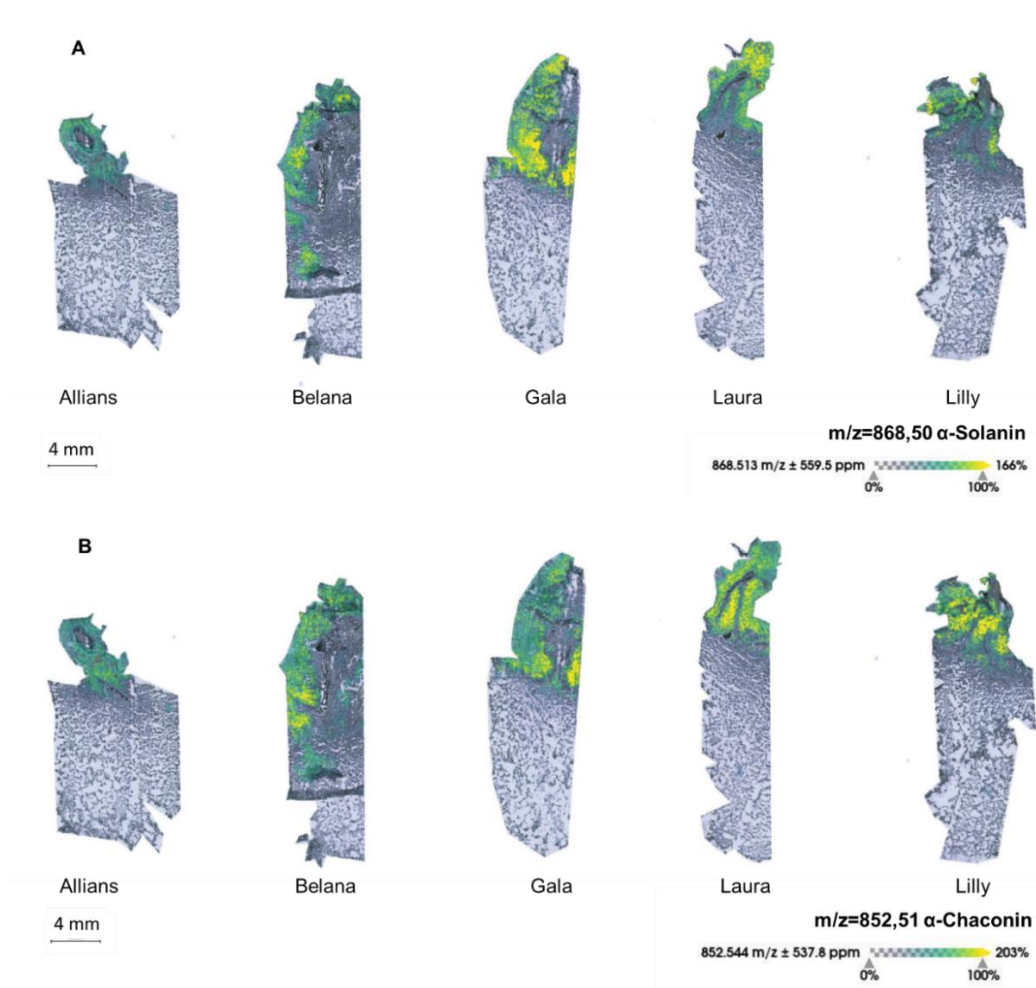


Abbildung 10: Bildgebende Massenspektrometrie der 5 Sorten im höchsten Keimungsstadium (> 3 cm). Je intensiver gelb die Einfärbung, desto höher die Konzentration der beiden Haupt-GA α -Solanin (A) und α -Chaconin (B). Durch die transparente Visualisierung der Akkumulation ist jeweils ein Scan der Probe als Hellfeld-Bild im Hintergrund zu sehen. Die Messung wurde bei positiver Ionisierung mit Matrix 2,5-Dihydroxybenzoesäure an einem ultrafleXtreme Massenspektrometer (Bruker Daltonik) mit einer lateralen Auflösung von 100 μ m durchgeführt.

Die mittels MALDI-TOF-Massenspektrometrie über das Masse-zu-Ladung-Verhältnis annotierten GA wurden zusätzlich mit einer höheren Massenauflösung und Tandem-Massenspektrometrie an einem MALDI-Orbitrap-Massenspektrometer analysiert. Dadurch

wurde die Annotation der GA α -Solamin und α -Chaconin bestätigt. Es wurden die zu erwartenden Fragmentspektren der GA detektiert, welche in Abbildung 11 dargestellt sind.

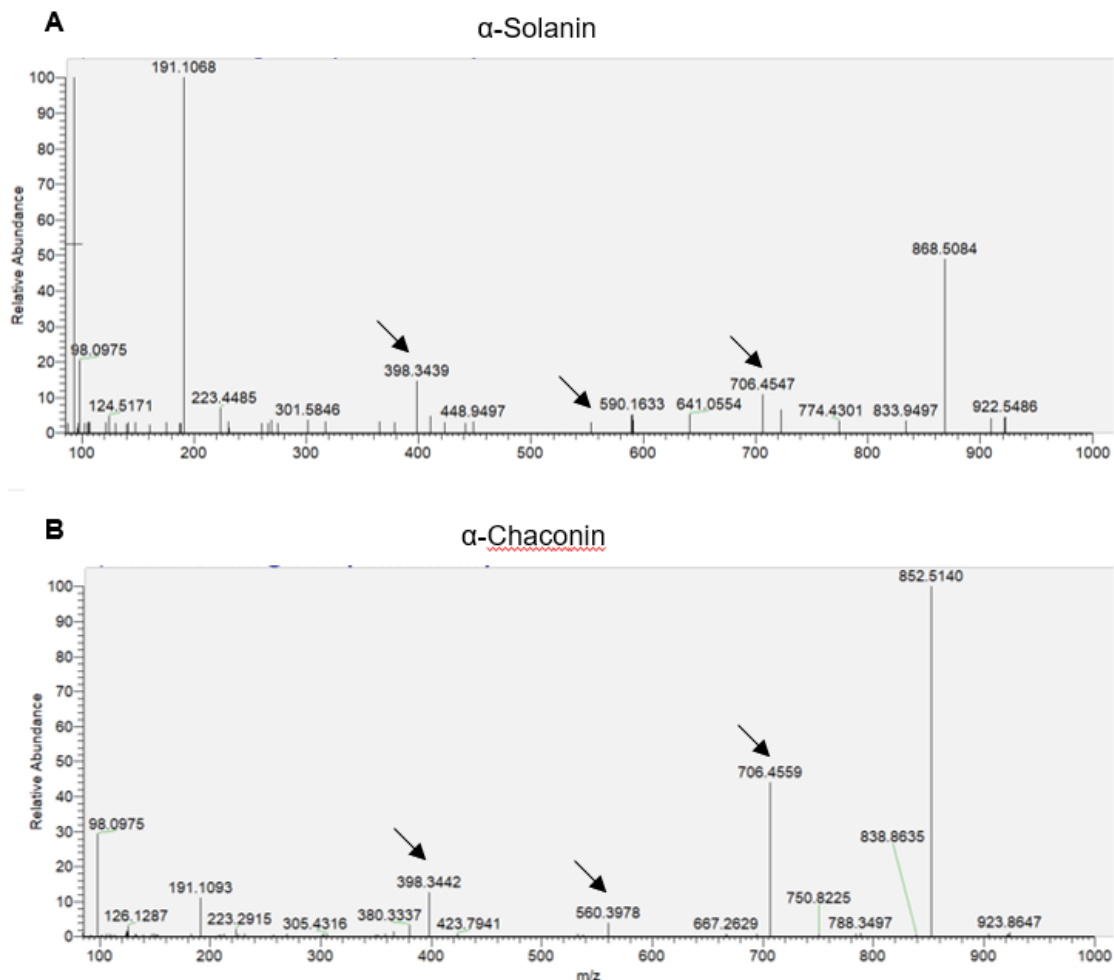


Abbildung 11: Tandem-Massenspektrometrie der Haupt-GA α -Solamin (A) und α -Chaconin (B) in Kartoffelproben. Die Ausgangsionen m/z 868 und m/z 852 sind zu sehen. Spezifische Fragmente sind durch Pfeile markiert. Die Messung wurde bei positiver Ionisierung mit Matrix 2,5-Dihydroxybenzoesäure an der Q Exactive Plus Orbitrap (Thermo Fisher Scientific), gekoppelt mit einem MALDI/ESI-Injector (Spectrograph) durchgeführt.

Im Anbaujahr 2021 ermöglichte eine zunächst unbeabsichtigte Variation in der Probenahme der Sorte 2 die ergänzende Untersuchung des Nabelendes (Abbildung 12). Die Analyse zeigt, dass die Signalintensität und somit die Abundanz des exemplarisch dargestellten GA's α -Chaconin am Nabelende deutlich geringer ist als am Kronenende, an welchem sich zugleich die Keime befinden. Darüber hinaus ist α -Chaconin auch am Nabelende vorwiegend in der Schale sowie den an die Schale angrenzenden Gewebebereichen lokalisiert.

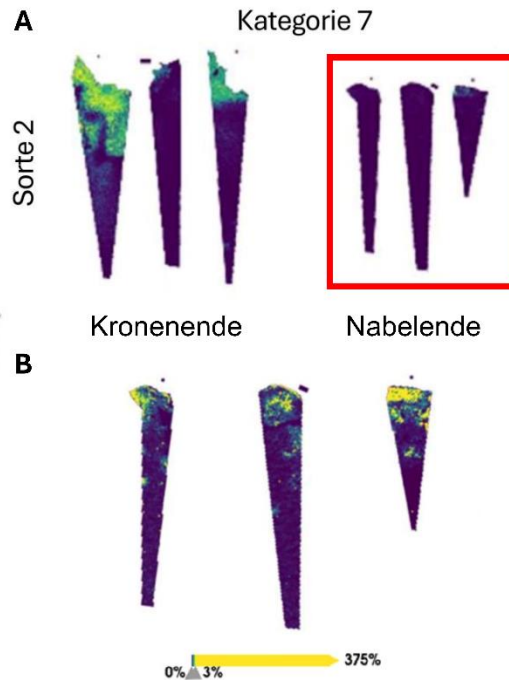


Abbildung 12: Gewebeverteilung des Glycoalkaloids α -Chaconin am Nabelende der Sorte 2 der höchsten Keimungsintensität (Kategorie 7) aus dem Anbaujahr 2021 verglichen mit dem Kronenende. Die Messung der 20 μm dicken Gewebeschnitte wurde bei positiver Ionisierung mit der Matrix 2,5-Dihydroxybenzoesäure an einem timsTOFflex Massen-spektrometer (Bruker Daltonik) mit einer lateralen Auflösung von 100 μm durchgeführt.

3.3.2.2 Verteilung der Haupt-GA in verschiedenen Keimungsstadien in beiden Versuchsjahren

Nachdem die primäre Lokalisierung der Haupt-GA in den Keimen aller fünf Sorten bei starker Keimung (Stadium 7) im Vorversuch (Anbaujahr 2021) gezeigt wurde (Abbildung 10), dienten die Proben der beiden Sorten 3 und 5 sowohl aus dem Anbaujahr 2021 sowie aus dem Anbaujahr 2023 als Grundlage für weiterführende Analysen hinsichtlich der Verteilung der Haupt-GA in verschiedenen Keimungsstadien. Zusätzlich wurden im Anbaujahr 2023 auch Verteilungsmuster geernteter Kartoffelknollen ermittelt.

Abbildung 13 zeigt die Verteilungen von α -Solanin und α -Chaconin in unterschiedlichen Keimungsstadien (Kategorie 3-7) in zwei Sorten (Sorten 3 und 5) des Anbaujahres 2021. Je nach Verfügbarkeit wurden 2-5 Replikate pro Sorte und Keimungsstadium analysiert. Ab Kategorie 5 zeigt sich eine stärkere Akkumulation der Haupt-GA, welche erneut hauptsächlich in den Keimen (Kategorie 6 und 7) detektiert wurden. Innerhalb der Keime wurde die höchste Intensität der GA im äußeren Rand gefunden. Zudem befinden sich GA unabhängig vom Keimungsstadium in der Schale.

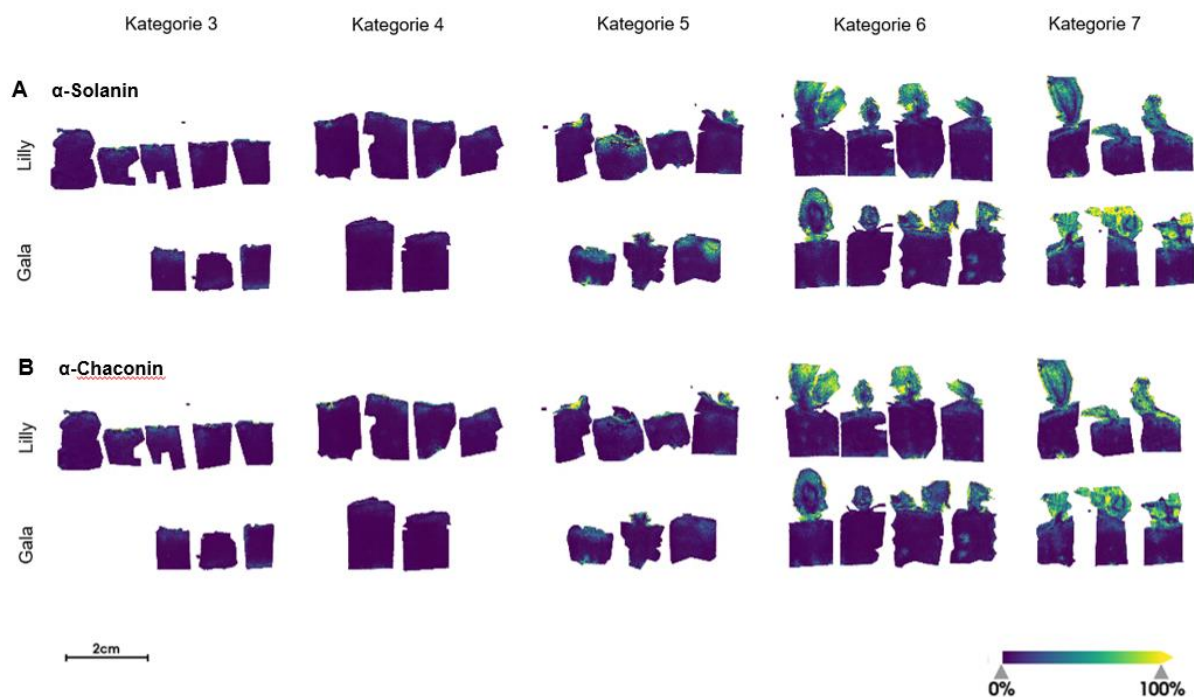


Abbildung 13: Bildgebende Massenspektrometrie der Haupt-GA in den Sorten 3 und 5 bei verschiedenen Keimungsintensitäten (Kategorie 3-7) aus dem Anbaujahr 2021. Je intensiver gelb die Einfärbung, desto höher die Konzentration der beiden Haupt-GA α -Solanin (A) und α -Chaconin (B). Die Messung wurde bei positiver Ionisierung mit Matrix 2,5-Dihydroxybenzoesäure an einem timsTOFflex Massenspektrometer (Bruker Daltonik) mit einer lateralen Auflösung von 100 μ m durchgeführt.

Die Proben aus neuen Feldversuchen des Anbaujahres 2023 dienen als Grundlage für weiterführende Analysen. Mittels MALDI-qToF-MSI wurde die Verteilung der Haupt-GA α -Solanin und α -Chaconin sowie dem Aglykon Solanidin in unterschiedlichen Keimungsstadien (Kategorie 2+4-7) in zwei Sorten (Sorten 3 und 5) untersucht. Je Sorte und Keimungsstadium wurden 4 Replikate analysiert. Bei den Replikaten handelt es sich um unterschiedliche beprobte Knollen aus 3 Feldversuchen. Das vierte Replikat stammt jeweils von einem zufällig ausgewählten Feldversuch aus einem der drei Feldversuche.

In Abbildung 14 ist die Verteilung der GA sowie Solanidin exemplarisch für jeweils ein Replikat pro Keimungsstadium und Sorte dargestellt. Anhand der Resultate lassen sich die Beobachtungen aus dem Anbaujahr 2021 bestätigen. Die Haupt-GA α -Solanin und α -Chaconin sind, sofern bereits Keimung stattgefunden hat, unabhängig vom Keimungsstadium primär im Keim lokalisiert. Im Keim weisen die GA die höchste Abundanz auf, gefolgt von der Schale sowie dem an die Schale angrenzenden Gewebe. In ungekeimten Knollen befinden sich die GA somit primär in der Schale und dem an die Schale angrenzenden Gewebe. Im Rahmen der MSI-Analytik der Kartoffelproben aus dem Anbauversuch des Jahres 2023 wurde ebenfalls die Verteilung des Aglykons Solanidin berücksichtigt. Die Gewebeverteilung von Solanidin deckt sich mit der Verteilung der Haupt-GA. Unterschiede lassen sich jedoch hinsichtlich der Signalstärke ausmachen. Solanidin weist grundsätzlich

eine geringere Signalstärke auf als α -Solanin und α -Chaconin. Es lässt sich somit die Aussage eines geringeren Solanidingehaltes treffen. Bei der Interpretation der Ergebnisse ist jedoch eine gewisse Vorsicht geboten, da das detektierte Solanidin physiologischen Ursprungs sein kann, jedoch nicht zwingend sein muss. Theoretisch könnte es ebenso als Fragmentierungsprodukt von α -Solanin und α -Chaconin entstanden sein.

Eine abschließende Differenzierung, ob das detektierte Aglykon Solanidin auf eine In-Source-Fragmentierung zurückzuführen ist oder nativ vorliegt, würde in einem möglichen Folgeprojekt den Einsatz vertiefter analytischer Methoden erfordern. Die höchste Signalstärke im Vergleich zu den anderen Analyten weist α -Chaconin in beiden untersuchten Sorten und allen Keimungsstadien auf. Signifikante Unterschiede hinsichtlich der GA-Verteilung zwischen den Sorten 3 und 5 konnten nicht beobachtet werden.

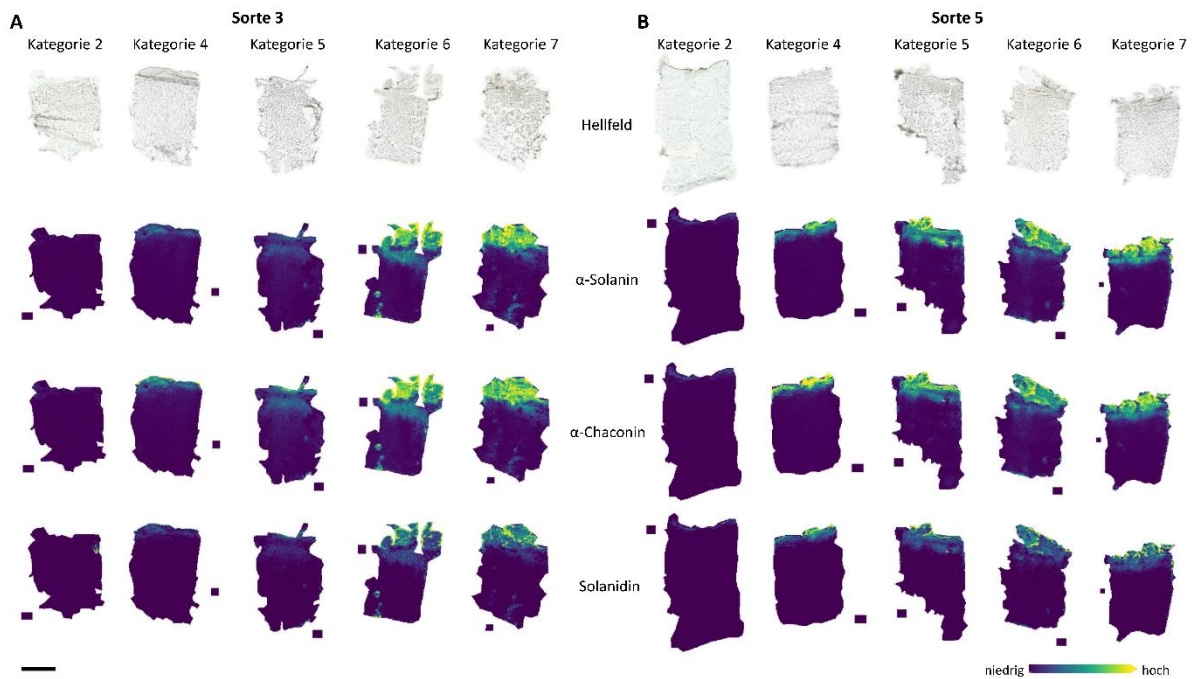


Abbildung 14: MALDI-MSI der Haupt-GA α -Solanin und α -Chaconin sowie des Aglykons Solanidin in den Sorten 3 (A) und 5 (B) in verschiedenen Keimungsstadien (Kategorie 2+4-7) aus dem Anbaujahr 2023. Die Messung der Kartoffelschnitte (Schnittdicke: 20 μ m) wurde bei positiver Ionisierung mit der Mat-rix 2,5-Dihydroxybenzoesäure (DHB) an einem timsTOFfleX Massenspektrometer (Bruker Daltonics) mit einer lateralen Auflösung von 100 μ m durchgeführt. Größenskala: 5 mm. Der Schalenbereich befindet sich am oberen Rand.

3.3.3 Einfluss der Zubereitung auf GA-Gehalte in Kartoffelknollen

3.3.3.1 Quantitative Bestimmung der GA

Zur besseren Bewertung der Verbrauchersicherheit wurden die Kartoffeln auf unterschiedliche Weise verzehrfähig zubereitet. Die GA-Gehalte (α -Solanin und α -Chaconin) von Pell- und Salzkartoffeln, die aus den 5 Sorten (2021) bzw. 2 Sorten (2023) des Keimungsstadiums 7 (Keime über 3 cm) zubereitet wurden, wurden analysiert (Abbildung 15 und Abbildung 16A). Dargestellt sind lediglich die Ergebnisse der LC-MS/MS Analytik.

Durch die Zubereitung zeigt sich grundsätzlich eine deutliche Minimierung im GA-Gehalt (Summe aus α -Solanin und α -Chaconin) der Pell- und Salzkartoffeln gegenüber der rohen ungeschälten Kartoffel. Alle Sorten zeigen eine höhere Reduktion des GA-Gehaltes von der geschälten rohen Knolle zur zubereiteten Salzkartoffel im Vergleich zur Reduktion durch Zubereitung zu Pellkartoffeln. Im ersten Jahr wurden Reduktionen von bis zu 85% für Salzkartoffeln und 57% für Pellkartoffeln und im zweiten Jahr bis zu 93% für Salzkartoffeln und 80% für Pellkartoffeln nachgewiesen. Die absoluten Konzentrationen der GA (Summe aus α -Solanin und α -Chaconin) lagen maximal bei 13 mg/kg FM in Salzkartoffeln und 45 mg/kg FM in Pellkartoffel.

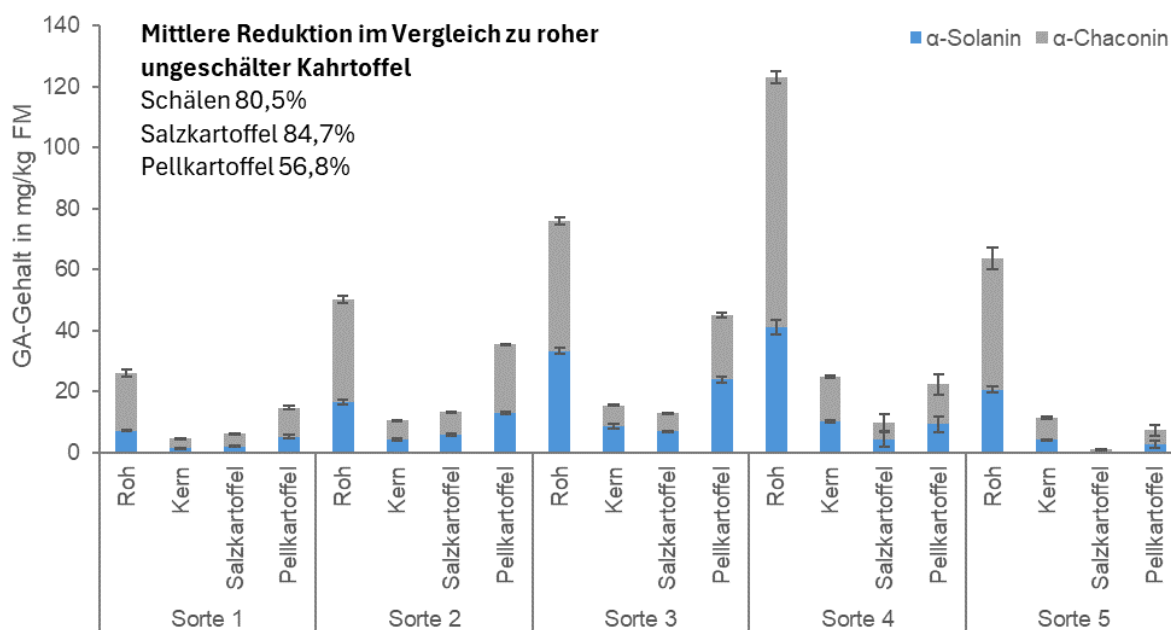


Abbildung 15: Einfluss der Zubereitung zu Pellkartoffeln und Salzkartoffeln auf den GA-Gehalt (Anbaujahr 2021, Keimstadium 7). Dargestellt sind jeweils MW +/- SD aus drei technischen Replikaten (n = 3). Auf einen statistischen Vergleich wurde mangels biologischer Replikate verzichtet. Prozentuale Angaben über den Balken beziehen sich auf die Reduktion der GA-Konzentration vom Rohstoff zum geschälten Zwischenprodukt bzw. zubereiteten Produkt. Analysen wurden mittels LC-MS/MS durchgeführt.

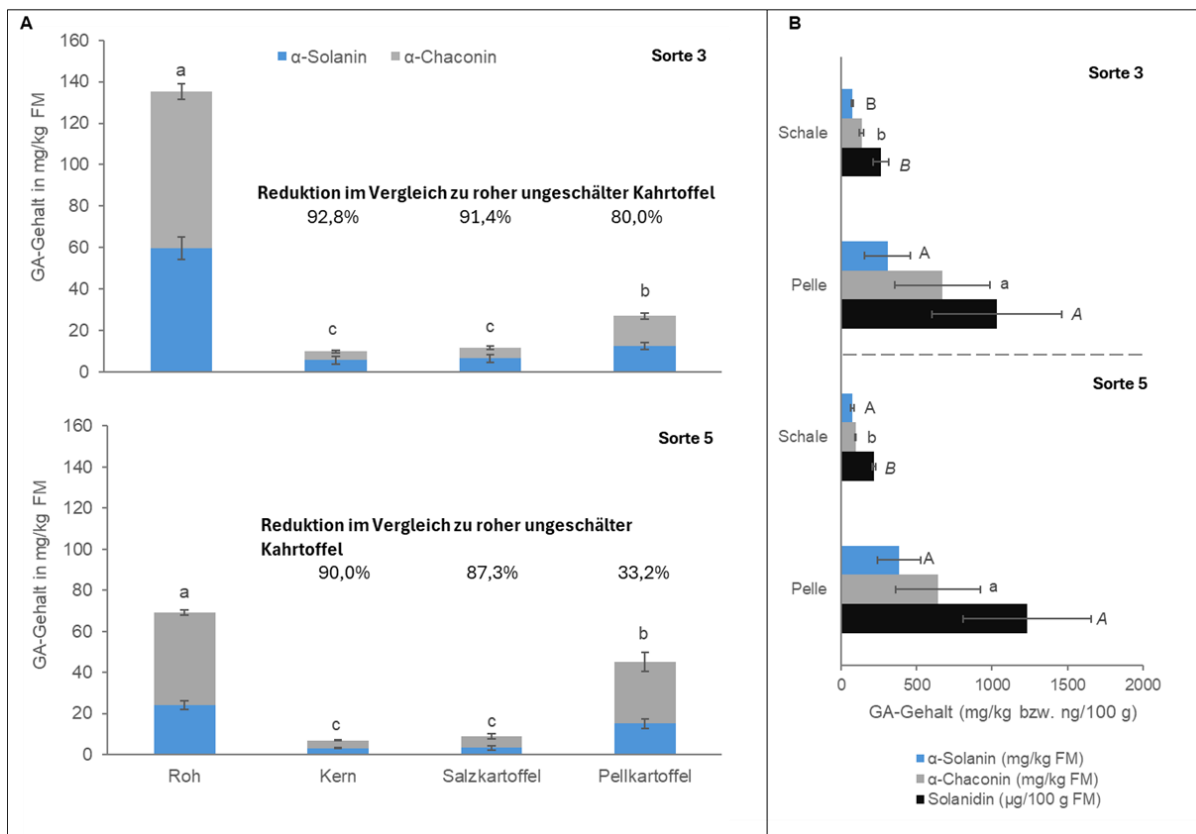


Abbildung 16: Einfluss der Zubereitung zu Pellkartoffeln und Salzkartoffeln auf den GA-Gehalt (Anbaujahr 2023, Keimstadium 7). Dargestellt sind jeweils MW \pm SD aus drei biologischen Replikaten ($n = 3$). Analysen wurden mittels LC-MS/MS durchgeführt. (A) Der statistische Vergleich bezieht sich auf die Konzentration der Summe der beiden Hauptalkaloide (α -Solanin und α -Chaconin) in Kartoffeln und Produkten in Abhängigkeit der Zubereitungsstufe für jede Sorte getrennt. Signifikante Unterschiede ($p > 0,05$) sind durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet. Prozentuale Angaben über den Balken beziehen sich auf die Reduktion der GA-Konzentration vom Rohstoff zum geschälten Zwischenprodukt bzw. zubereiteten Produkt. (B) Gehalte an α -Solanin, α -Chaconin und Solanidin in Schale und Pelle. Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede ($p > 0,05$) zwischen Schale und Pelle innerhalb einer Sorte (Großbuchstaben für Solanin, Kleinbuchstaben für Chaconin, kursive Großbuchstaben für Solanidin). Solanidin ist in der Einheit $\mu\text{g}/100 \text{ g FM}$ dargestellt, während Solanin und Chaconin in $\text{mg}/\text{kg FM}$ dargestellt sind.

Erste Auswertungen des Solanidins erfolgten für Pelle und Schale im zweiten Anbaujahr (Abbildung 16B). Grundsätzlich ist die Solanidin-Konzentration in den Proben deutlich niedriger als die der α -Formen der GA (α -Solanin und α -Chaconin) und wird daher zur besseren Anschaulichkeit auf $\mu\text{g}/100 \text{ g FS}$ umgerechnet. Die Pelle besitzt Solanidingehalte von maximal $1232 \mu\text{g}/100 \text{ g FS}$ (entsprechen $12,3 \text{ mg}/\text{kg FS}$) und die Schale von maximal $265 \mu\text{g}/100 \text{ g FS}$ (entsprechen $2,7 \text{ mg}/\text{kg FS}$), während die α -Formen der GA in Summe bei $2257 \text{ mg}/\text{kg FS}$ (Pelle) und $473 \text{ mg}/\text{kg FS}$ (Schale) aufweisen. Interessanterweise ist die Konzentration ($\text{mg}/\text{kg FS}$ bzw. $\mu\text{g}/100 \text{ g FS}$) aller Einzelsubstanzen,

Solanidin, α -Solanin und α -Chaconin, in der Pelle tendenziell und teilweise sogar signifikant höher als in der Schale. Eine mögliche Ursache kann darin liegen, dass bei der Pelle hauptsächlich das Periderm (äußere Zellschichten) und bei der Schale auch darunterliegende Gewebeschichten mit bis zu 2 mm Dicke und vermeintlich geringeren GA-Konzentrationen als im Periderm verwendet wurden. In den Schalen kann somit eine Verdünnung vermutet werden.

Zum tieferen Verständnis der Änderungen im GA-Gehalt durch die Zubereitung der Speisekartoffeln war auch geplant Untersuchungen am Kochwasser, das bei der Zubereitung anfällt, durchzuführen. Die im ersten Zwischenbericht gezeigten Ergebnisse basieren auf einer Bestimmung mittels HPLC-UV. Auf die Ergebnisdarstellung wird allerdings im vorliegenden Bericht aus folgenden Gründen verzichtet. Zum einen konnte eine als notwendig erachtete Verifizierung der HPLC-UV Ergebnisse mittels LC-MS/MS zeitlich im Projektverlauf nicht umgesetzt werden. Zum anderen wurden trotz Filtration der Kochwasser unterschiedliche Mengen an Feststoffen, die sich im Garprozess gelöst haben, getrocknet (siehe Abbildung 1C). In der Rückschau wird die Bezugsbasis (Inhaltsstoffzusammensetzung wie z.B. an Schalen anhaftende Bodenpartikel, zerfallenes Kartoffelgewebe aus Cellulose oder Stärke in der Masse der getrockneten Kochwasser) der einzuwiegenden Proben daher als nicht gesichert vergleichsfähig erachtet. Die Aufstellung einer Massenbilanz zum Verbleib von GA im Garprozess ist daher mit der gewählten Methode nicht zuverlässig möglich.

3.3.3.2 Veränderung der GA-Verteilung

Nach der Analyse der GA-Verteilung in rohen Kartoffeln sowohl im vorherigen Abschnitt als auch im vorhergehenden Zwischenbericht, liegt der Fokus dieses Abschnitts auf den Veränderungen, die durch die Verarbeitung zur Pellkartoffel auftreten. Mittels MALDI-MSI wurde untersucht, inwieweit sich die räumliche Verteilung und Intensität der GA durch den Kochvorgang verändert.

Der Abbildung 17 lässt sich entnehmen, dass α -Solanin, α -Chaconin und Solanidin, unabhängig von der Sorte, ebenso wie im Rohstoff primär im Keim, bzw. der Schale und der Schale angrenzenden Gewebe lokalisiert sind. Auffällig ist die geringere Signalstärke der Haupt-GA sowie Solanidin verglichen mit rohen Kartoffelproben, was die Aussage eines geringeren Gehaltes in den verarbeiteten Pellkartoffelproben zulässt. Auch in den Pellkartoffelproben weist Solanidin die geringste Signalintensität im Vergleich mit den anderen untersuchten Analyten auf. Ferner tritt es in Co-Lokalisation mit α -Solanin und α -Chaconin auf.

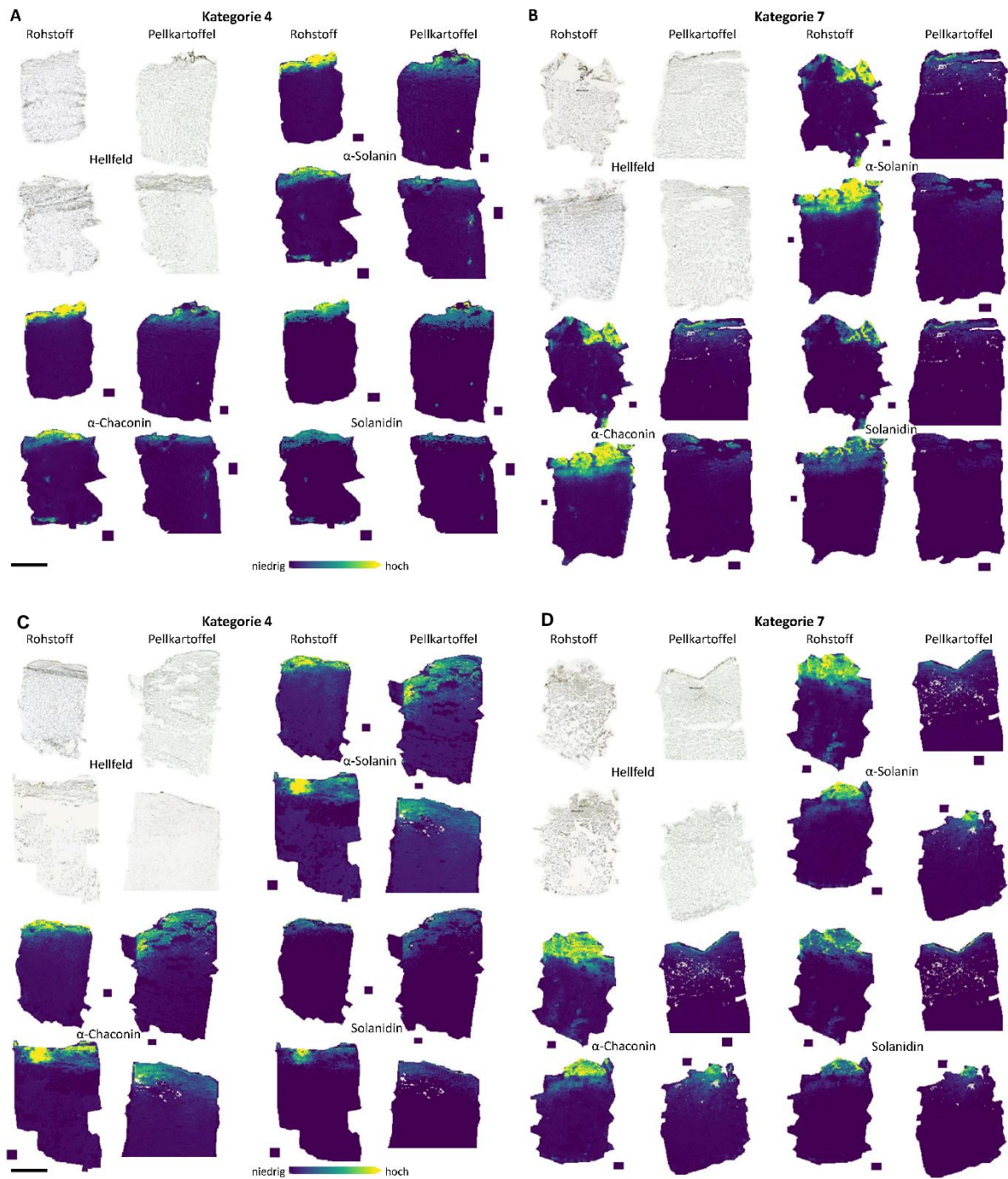


Abbildung 17: Vergleich der GA-Verteilung von α -Solanin und α -Chaconin sowie des Aglykons Solanidin in rohen (je 2 Replikate) und zu Pellkartoffeln verarbeiteten Kartoffeln (je 2 Replikate) der Sorte 3 in den Keimungsstadien Kategorie 4 (A) und 7 (B) bzw. der Sorte 5 in den Keimungsstadien Kategorie 4 (C) und 7 (D). Die Messung der Kartoffelschnitte (Schnittdicke: 20 μ m) wurde bei positiver Ionisierung mit der Matrix 2,5-Dihydroxybenzoesäure (DHB) an einem timsTOFflex Massenspektrometer (Bruker Daltonics) mit einer lateralen Auflösung von 100 μ m durchgeführt. Größenskala: 5 mm. Der Schalenbereich befindet sich am oberen Rand.

3.3.3.3 Analyse der Eindringtiefe von α -Solantin in den Kern der Kartoffel

Aufbauend auf dem Vergleich der GA-Verteilung in rohen und gekochten Kartoffeln (Pellkartoffeln) richtet sich das Augenmerk dieses Abschnitts auf die Analyse der Eindringtiefe von GA in das innere Gewebe der Knolle. Hierzu wurden die räumlich aufgelösten massenspektrometrischen Bilddaten grafisch ausgewertet, wobei die Grauwertintensität der detektierten GA-Signale als Maß für deren relative Konzentration entlang der Schnitte herangezogen wurde. Es wurden Bereiche mit Schale für die Analyse herangezogen, wobei die Keime ausgespart wurden, da der Einbezug der Keime das Gesamtergebnis potenziell verfälscht hätte.

Die Abbildung 18 fasst exemplarisch erste Resultate hinsichtlich der Analyse der Eindringtiefe von GA in den Kern der Kartoffel auf Basis der mittels MALDI-MSI erzeugten Ionenverteilungskarten zusammen. Den bisherigen Ergebnissen ist zu entnehmen, dass sich die Profile der untersuchten Sorten potenziell unterscheiden (Abbildung 18A Rohstoff und Abbildung 18B). Eine statistisch belastbare Aussage hierzu kann jedoch derzeit noch nicht getroffen werden. Hierfür ist eine weiterführende Datenanalyse erforderlich. Es lässt sich eine deutliche Tendenz beobachten, dass der größte Anteil des α -Solantin Signals ($\geq 85\%$) innerhalb der ersten 2 mm der Kartoffel ausgehend von der Schale akkumuliert. Diese Beobachtung deckt sich mit der aus verschiedenen Studien durch die EFSA zusammengetragenen Reduktionen der GA durch das Schälen der Kartoffeln von bis zu 75% [3].

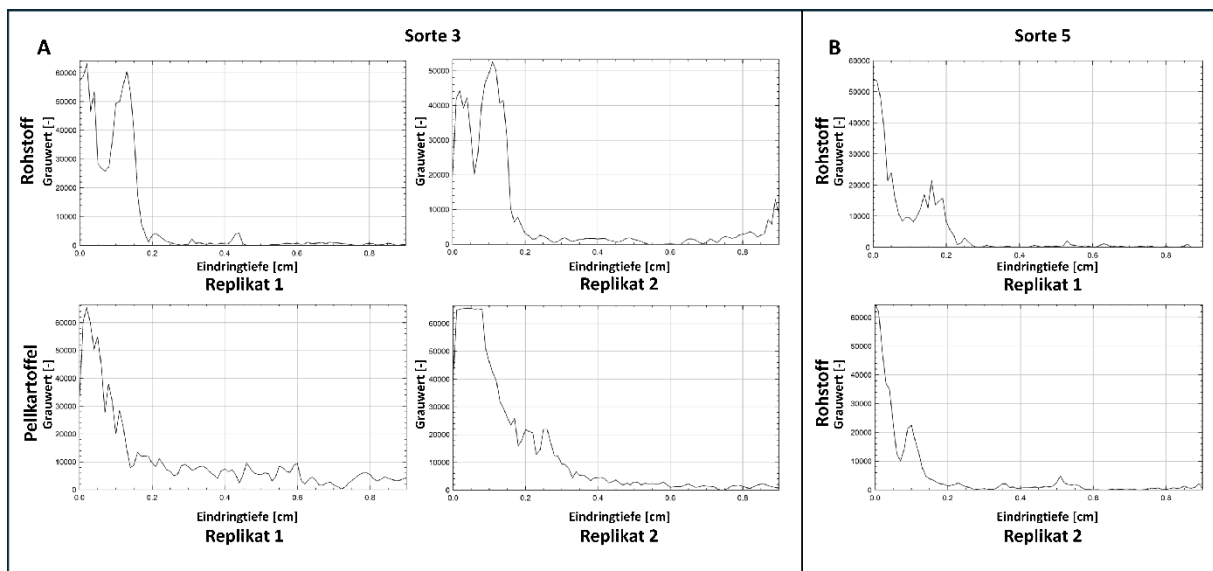


Abbildung 18: Analyse der Eindringtiefe von α -Solantin in den Kern der Kartoffel. Die Eindringtiefe des GAs α -Solantin wurde exemplarisch in Kartoffelproben (Kategorie 7) beider Sorten, Sorte 3 (A) und Sorte 5 (B) auf der Basis der massenspektrometrischen Bilddaten der α -Solantin Gewebeverteilung untersucht. Hinsichtlich der Sorte 3 wurde zusätzlich der Rohstoff mit der als Pellkartoffel verarbeiteten Form verglichen.

3.4 Freie Monosaccharide und Saccharose

Die freien Monosaccharide (Glucose und Galactose) und Saccharose wurden mittels Anionenaustauschchromatographie (high pressure anion exchange chromatography; HPAEC) am MRI in einem ausgewählten Probenstich aus dem Anbaujahr 2023 der Sorte 5 gemessen. Rhamnose konnte nicht detektiert werden, da sie zum einen von einem hohen Glucosepeak überlagert wurde und zum anderen in den Keimen und in Proben mit geringerer Glucosekonzentration aufgrund einer schlechten Trennung von einem überlagernden Peak nicht auswertbar war. Es wird vermutet, dass es sich bei den Peaks, die der Retentionszeit der Rhamnose zugeordnet werden können, um unbekannte Artefakte handelt.

Es zeigte sich generell in allen Proben eine hohe Abundanz von Glucose und Saccharose und eine geringe Abundanz von Galactose (Abbildung 19). Hohe Glucose-, geringere Saccharose- und deutlich geringere Galactosegehalte in Keimen zeigen, dass der Zuckerttransport in Keimen vor allem in Form von Glucose stattfindet. Die hohen Glucosekonzentrationen der Keime könnten dem GA-Metabolismus direkt in den Keimen zur Verfügung stehen. In dem Kern der Pellkartoffeln sind geringere Saccharose- und Glucosekonzentrationen vorhanden, was vermutlich auf eine bereits in rohen Kartoffeln geringere Konzentration dieser beiden Zucker zurückzuführen ist.

Insgesamt lassen sich bei den detektierbaren Zuckern Saccharose, Glucose und Galactose keine signifikanten Veränderungen durch den Garprozess feststellen. Es kann schlussgefolgert werden, dass sich mögliche chemische Abbauprozesse der Glykoalkaloide durch Abspaltung der Monosaccharide nicht auf indirektem Wege durch die Quantifizierung der Glucose und Galactose prüfen lassen. Ein chemischer Abbau der Glykoalkaloide könnte nur durch den direkten Nachweis der Zwischenprodukte gezeigt werden.

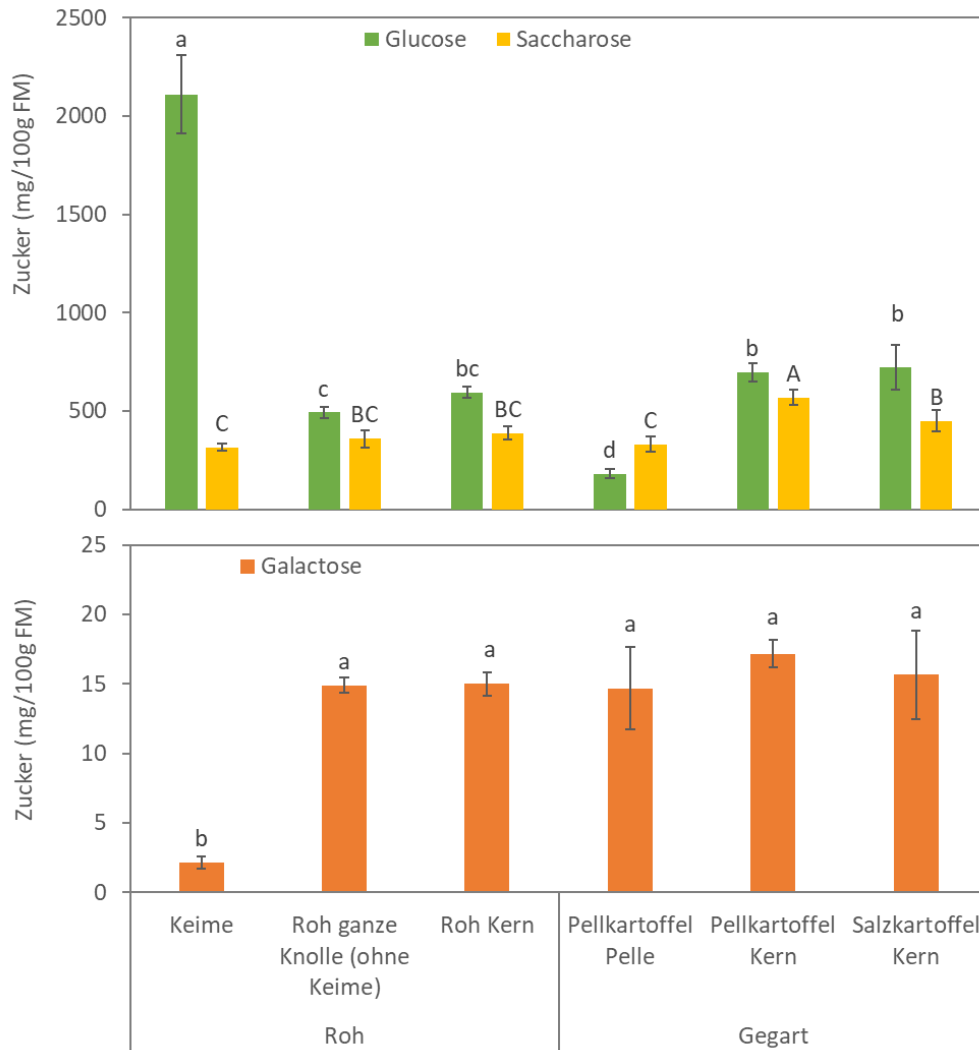


Abbildung 19: Freie Monosaccharide und Saccharose in Keimen und unter dem Einfluss der Zubereitung zu Pellkartoffeln und Salzkartoffeln (Anbaujahr 2023, Keimstadium 7, Sorte 5). Dargestellt sind jeweils MW \pm SD aus drei biologischen Replikaten ($n = 3$). Analysen wurden mittels HPAEC durchgeführt. Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede ($p > 0,05$, Tukey-Test) zwischen den verschiedenen Matrices getrennt nach Zucker.

3.5 Molekularbiologische Untersuchungen (RNASeq, RT-qPCR)

Für die RNASeq-Analysen wurden die am MRI genommenen Kartoffelproben (Abbildung 20) homogenisiert und für die RNA-Extraktionen genutzt. Die Bohrkern von Nabel zu Krone beinhalten außerdem, je nach Ausprägung, die Keimlinge. Für jede der beiden Sorten wurde RNA für die Keimungsstadien 2, 5, 6 und 7 (mit jeweils drei Replikationen) für beide Anbaujahre (2021 und 2023) isoliert. Alle Proben wurden zur RNA-Sequenzierung mittels Illumina (150 bp paired-end) zur Novogene GmbH nach München geschickt. Die Ergebnisse der RNASeq-Analysen für 48 Proben = 2 Sorten x 2 Jahre x 4 Stadien x 3 Replikationen wurden anschließend bioinformatisch analysiert.

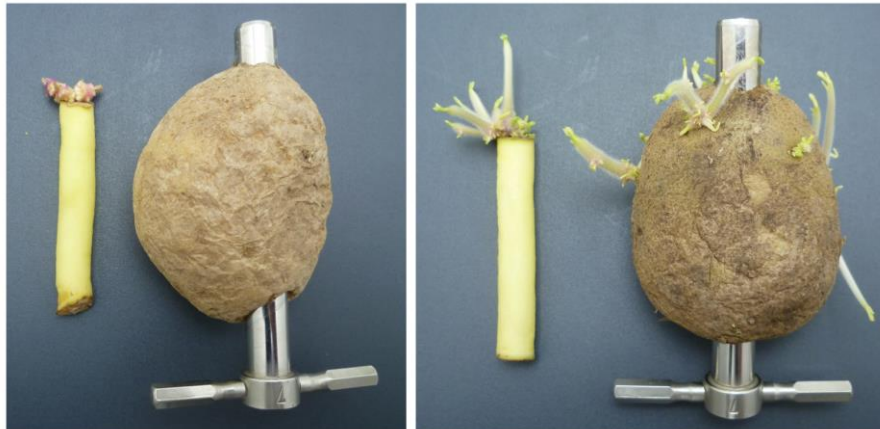


Abbildung 20: Bohrkerne der Kartoffelknollen mit Darstellung der Probenahme. Links Keimungsstadium 2, rechts Keimungsstadium 5.

Die Hauptkomponentenanalyse (Principal Component Analyse, PCA) für die RNASeq-Datensätze zeigte deutlich vier große Cluster (Abbildung 21). Die beiden Sorten 3 und 5 ließen sich deutlich auftrennen und zwischen dem Keimungsstadium 2 und den drei anderen Keimungsstadien (5, 6 und 7) konnte eindeutig unterschieden werden. Zwischen den zwei Anbaujahren zeigten sich keine Unterschiede in der PCA. Auch die drei Replikationen der jeweiligen Keimungsstadien und Sorten liegen jeweils dicht beieinander, so dass eine gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse gegeben ist. Auf dieser Grundlage konnten die Ergebnisse und die verschiedenen differenziell exprimierten Gene (DEGs) analysiert werden.

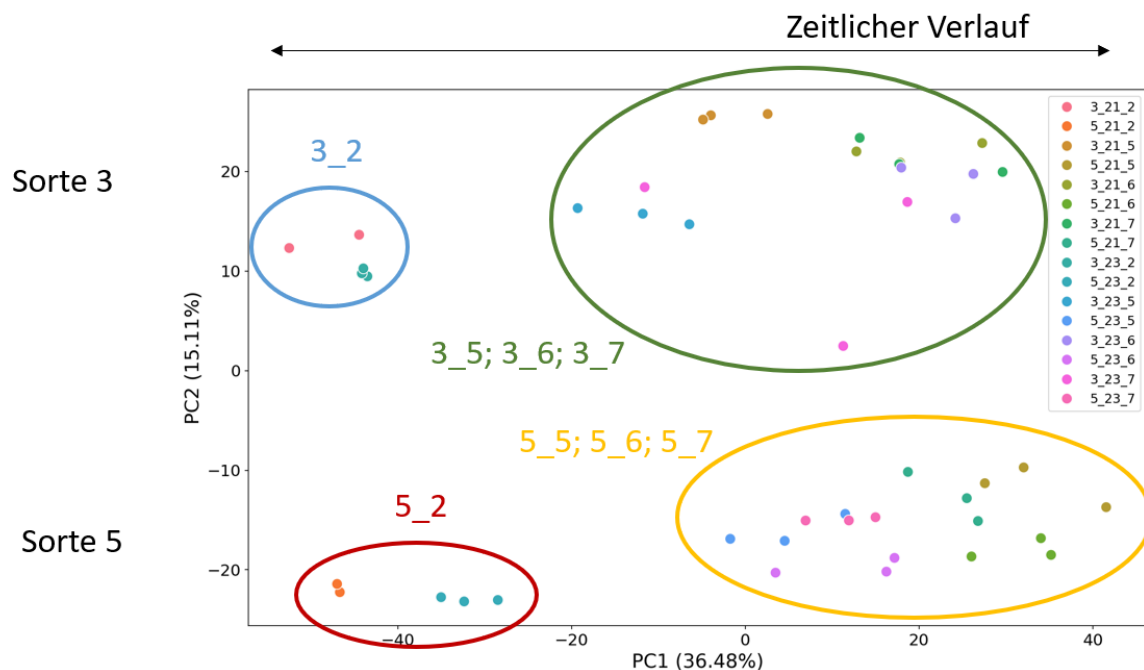


Abbildung 21: Hauptkomponentenanalyse (Principal Component Analyse, PCA) von allen sequenzierten Proben mit Markierung der Cluster für die Sorten und die Keimungsstadien 2, 5, 6 und 7.

Um einen Überblick über die DEGs zu bekommen, wurden die Volcano Plots für die interessanten Vergleiche (z.B. Sorte 5 Vergleich des Keimungsstadiums 2 mit dem Keimungsstadium 5) betrachtet und die Verteilung der signifikanten hoch- und runterregulierten Gene angeschaut (Signifikanzlevel: $p_{adj} \leq 0,05$; $|\log_2\text{FoldChange}| \geq 1$; Abbildung 22). Besonders signifikante oder besonders stark hoch- bzw. runterregulierte Gene sowie Clusterbildungen können hier interessant sein.

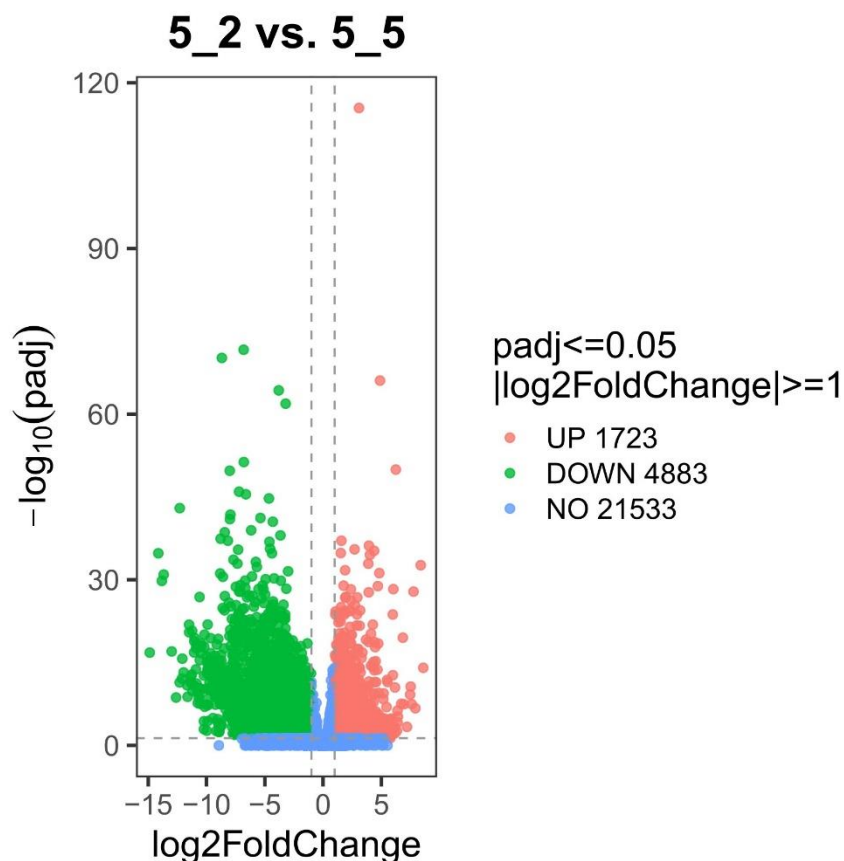


Abbildung 22: Volcano Plot mit allen differenziell exprimierten Genen zwischen den Keimungsstadien 2 und 5 der Sorte 5. Blaue Punkte = nicht signifikante Gene, grüne Punkte = signifikant runterregulierte Gene, rote Punkte = signifikant hochregulierte Gene. Auf der x-Achse ist die Stärke der unterschiedlichen Expression aufgetragen (je weiter außen die Punkte liegen, desto stärker differenziell exprimiert sind die Gene), auf der y-Achse ist die statistische Signifikanz aufgetragen (je weiter oben die Punkte liegen, desto signifikanter ist die unterschiedliche Expression).

In der Publikation von Akiyama et al. [24] wurde ein Cluster von Genen der Steroid Glykoalkaloid Biosynthese untersucht, welches von einem Transkriptionsfaktor reguliert wird. Diese 47 Kandidatengene wurden als Grundlage für die Analysen der RNA-Sequenzierungsdaten genommen. Es wurde eine Heatmap der $\text{Log}_2\text{FoldChange}$ Werte dieser Gene in unseren Analysen erstellt (Abbildung 23). Dabei fiel auf, dass sehr viele der in dieser Publikation beschriebenen Gene auch bei uns eine unterschiedliche Expression aufwiesen, welche sich sowohl zwischen den zwei untersuchten Sorten als auch zwischen den unterschiedlichen Keimungsstadien unterschieden. Einige Gene zeigten besonders zwischen den Sorten starke Unterschiede.

Für die Gene, welche die stärksten Unterschiede zwischen den Sorten und den Keimungsstadien zeigten, wurden Primer für RT-qPCRs abgeleitet. Zusätzlich dazu wurde für alle fünf Sorten aus den Proben des Anbaujahres 2021 RNA isoliert, um Unterschiede zwischen allen angebauten Sorten zu erkennen. Mit diesen Proben wurden in dreifacher biologischer und dreifacher technischer Replikation ($n = 9$) für jedes Gen qPCRs durchgeführt. Als Referenzgene dienten Actin und GAPDH [24]. Die Auswertung der qPCR erfolgte mittels der Methode nach Pfaffl [25].

Vergleicht man sowohl die RNASeq-Daten als auch die qPCR-Daten für alle Sorten zeigte sich durchweg ein signifikanter Unterschied zwischen den Keimungsstadien 2 und 5 (Abbildung 24). In Keimungsstadium 2 waren die Gene der Steroid Glykoalkaloid Biosynthese gar nicht bis wenig exprimiert, wobei in Keimungsstadium 5 alle untersuchten Gene dieses Biosyntheseweges eine deutliche Expression zeigten. Vergleicht man dies mit dem Vorkommen der Glykoalkaloide im Kern der Kartoffeln deckten sich die Ergebnisse nur teilweise (Abbildung 4). Bei einigen Sorten ging der Glykoalkaloidgehalt im Kern im Jahr 2021 von Keimungsstadium 2 zu Keimungsstadium 5 hoch (Sorte 3 und 5), bei den anderen beiden Sorten allerdings blieb der Gehalt gleich oder nahm ab. In 2023 gab es nur bei Sorte 3 zu Stadium 6 eine Zunahme der GA Gehalte während die GA Gehalte bei Sorte 5 abnahmen. Auch in der Schale zeigte sich kein ganz eindeutiges Bild für den Verlauf der Keimungsstadien für Sorten 3 und 5, wobei tendenziell eher abnehmende GA-Gehalte zu verzeichnen sind (Abbildung 5 und Abbildung 6). Die Gehalte in den Keimen nahmen grundsätzlich ab mit zunehmender Keimlänge (Abbildung 7 und Abbildung 8).

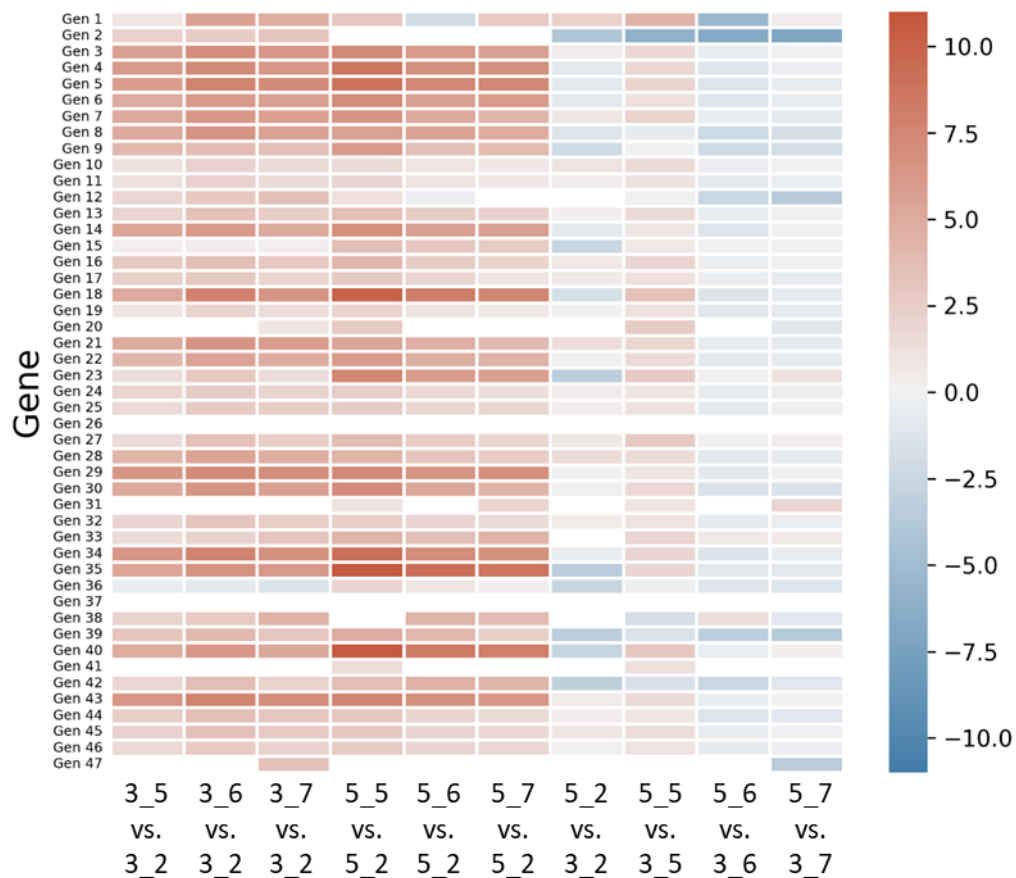


Abbildung 23: Heatmap der Log₂FoldChange Werte der 47 Kandidatengene der Steroid Glykoalkaloid Biosynthese aus Akiyama et al. [24] aus den Analysen der Anbaujahre 2021 und 2023. Rot = hochregulierte Gene, blau = runterregulierte Gene. Je dunkler die Farbe wird, desto stärker die unterschiedliche Expression. Die einzelnen Zeilen zeigen die Gene, die Spalten bilden die jeweiligen Vergleiche zwischen den Sorten/ Stadien ab.

Vergleicht man die Expression der neun Kandidatengene in Keimungsstadium 5 über alle Sorten ließen sich einige signifikante Unterschiede erkennen (Abbildung 25). Allerdings konnte kein Zusammenhang mit dem Verteilungsmuster der Glykoalkaloide zwischen den verschiedenen Sorten in den Kartoffelknollen festgestellt werden.

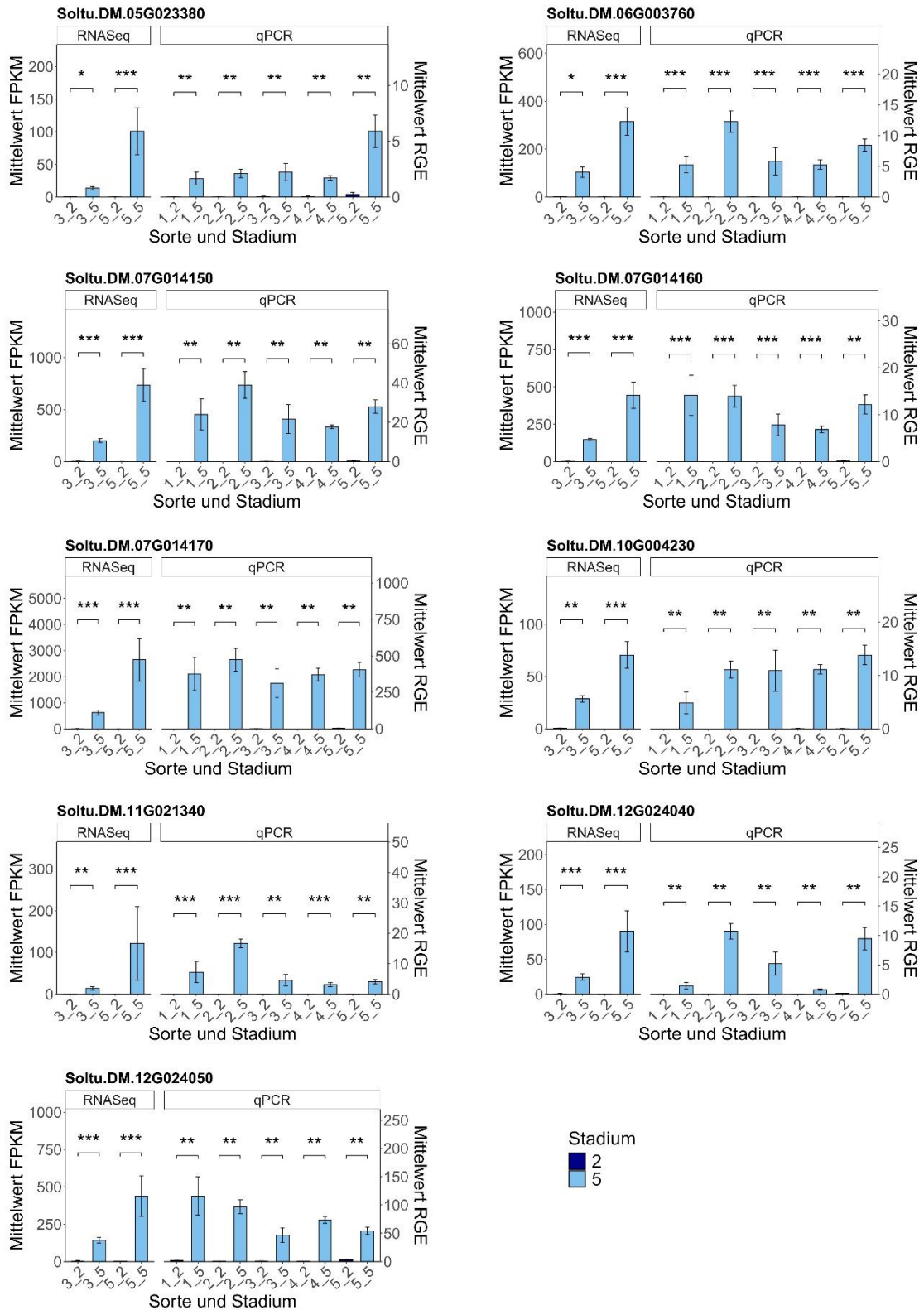


Abbildung 24: Expression der neun Kandidatengene in Keimungsstadium 2 gegenüber Keimungsstadium 5 aus dem Anbaujahr 2021. Links sind die RNASeq-Daten der Sorten 3 und 5 dargestellt, rechts die qPCR-Daten aller fünf Sorten aus 2021, jeweils mit Mittelwert und Standardfehler. Für die qPCR-Daten wurde die Signifikanz über einen Kruskal-Wallis Test mit Wilcoxon Post-hoc Test mit Benjamini-Hochberg-Korrektur ermittelt.

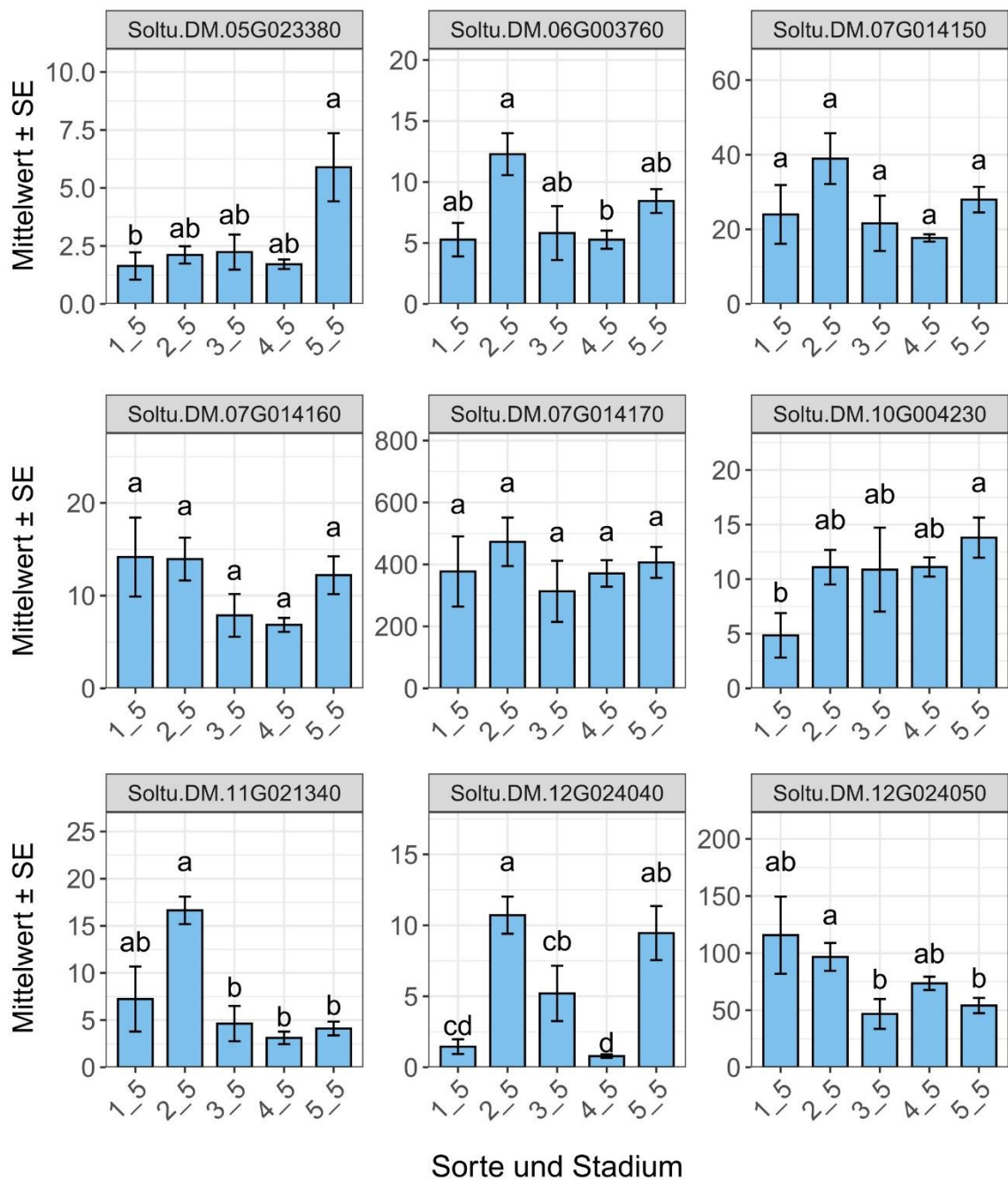


Abbildung 25: Vergleich der Genexpression aller fünf Sorten in Keimungsstadium 5 für neun differentiell exprimierte Gene für das Anbaujahr 2021. Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardfehler. Die Signifikanzen der Vergleiche wurden über einen Kruskal-Wallis Test mit Wilcoxon Post-hoc Test mit Benjamini-Hochberg-Korrektur überprüft und sind als Buchstaben dargestellt.

Zusätzlich zu den Expressionsanalysen wurden mit Hilfe der RNASeq-Daten (Anbaujahr 2021 und 2023) SNP Analysen durchgeführt, um geeignete Marker zu entwickeln. Auch hierfür wurden die 47 Kandidatengene von Akiyama et al. [24] als Grundlage genutzt. Gefundene SNPs mussten folgende Anforderungen erfüllen, um als Grundlage zur Markerentwicklung zu dienen:

- ein Vorhandensein in allen drei Replikationen,
- eine Read Depth > 10, einen Fisher Score von > 30 (Phred-scaled p-value using Fisher's exact test) und
- eine Qualität der read Depth > 2.

Die Analysepipeline ist in Abbildung 26 dargestellt.

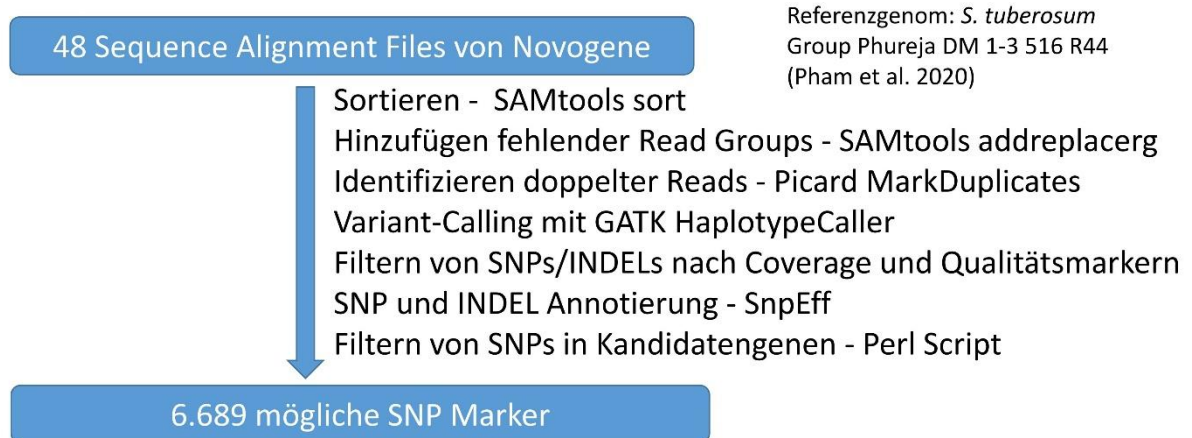


Abbildung 26: Pipeline der SNP Analyse. Referenzgenom nach Pham et al. [26].

Mit Hilfe dieser Analysepipeline wurden insgesamt 6.689 mögliche SNPs zur Markerentwicklung gefunden. Dabei konnten sowohl stadienspezifische als auch sortenspezifische SNPs ermittelt werden. In Abbildung 27 sind die für die Sorten 3 und 5 spezifischen SNPs je nach Anbaujahr in einem Venn-Diagramm abgebildet.

Die gefundenen SNPs haben großes Potential, die moderne Züchtung zu unterstützen. Um die SNPs zu testen und als molekulare Marker nutzen zu können, wird ein größeres Assoziationspanel an Kartoffelsorten mit bekannten Glykoalkaloidgehalten benötigt.

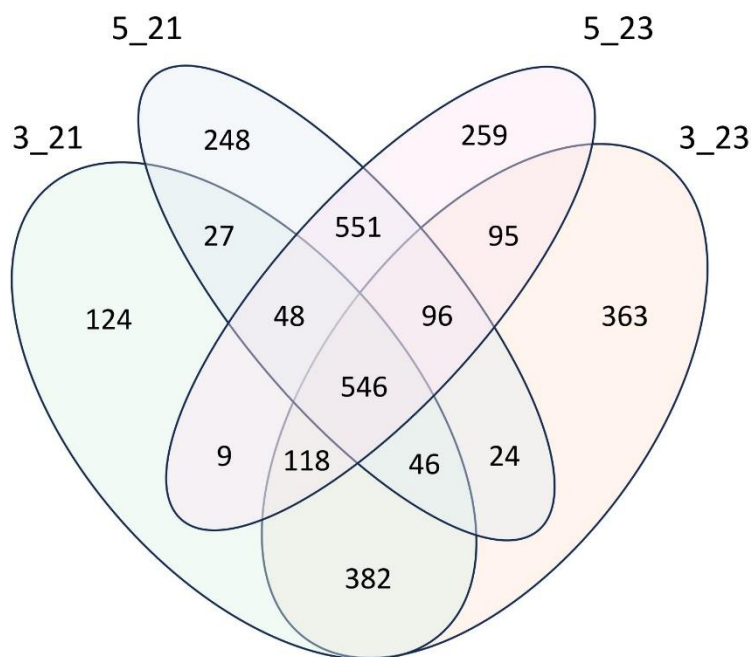


Abbildung 27: Venn Diagramm über alle SNPs der Sorten 3 und 5 in den Anbaujahren 2021 und 2023.

3.6 Schlussbetrachtung

3.6.1 Effekt der Keimung

Für geschälte Kartoffeln (Kern) lässt sich kein eindeutiger Effekt der Keimung auf die GA-Bildung in rohen Kartoffeln ableiten. Insgesamt liegen die GA-Gehalte im Kern bei allen Sorten und Keimungsstadien deutlich unterhalb des möglichen zukünftigen Richtwertes von 100 mg/kg FM und sogar unter 50 mg/kg FM. Die angewandten instrumentellen Analysen bestätigen, dass GA vor allem in der Schale und in den Keimen lokalisiert sind. Zudem zeigen sich die GA-Gehalte in Nabelende und Kern in der Imaging Analyse als unproblematisch im Vergleich zur Region der Augen, der Schale und dem Keim. Die GA-Gehalte in der Schale sind mit zunehmender Keimungsintensität gleichbleibend oder abnehmend bezogen auf das untersuchte Sortenset. Die Keime weisen zwar die höchsten GA-Konzentrationen auf, jedoch kommt es mit zunehmendem Keimwachstum zu einer Abnahme der GA-Konzentration in den Keimen, was u.a. vermutlich auf einen Verdünnungseffekt zurückgeführt werden kann.

Monosaccharide und Saccharose können als weitere im GA-Synthese- und Abbauprozess relevante Metabolite nicht als Indikator für ein hohes GA-Bildungspotential herangezogen werden. Jedoch zeigt sich für Glucose, dass dieses Monosaccharid insbesondere im Keimling lokalisiert ist, wo es theoretisch auch verstärkt für die GA-Bildung (vor allem α -Chaconin) zur Verfügung stehen kann.

Signifikante Unterschiede können im Transkriptom zwischen dem ungekeimten und gekeimten Zustand nachgewiesen werden. Bei den veränderten Transkripten handelt es sich unter anderem um Gene aus dem Biosyntheseweg der GA. Zu bedenken ist hierbei, dass der nachgewiesene Effekt der Keimung im Transkriptom nicht auf Einzelfractionen wie zum Beispiel dem Kern der Kartoffel übertragbar ist, da eine Mischprobe für die molekularbiologischen Arbeiten verwendet wurde. SNPs aus RNA Seq-Analysen erlauben eine sorten- und stadienspezifische Markerentwicklung, die für die Züchtung von Sorten mit geringerem GA-Bildungspotential genutzt werden könnten

3.6.2 Effekt der Zubereitung zum verzehrfähigen Produkt (Garen) auf GA-Gehalte

Durch die Zubereitung insbesondere zu Salzkartoffeln findet eine Minimierung von bis zu 57-92 % statt. Das Schälen der äußeren ca. 2 mm führt zu deutlicher Reduktion, da hierbei das Periderm und weitere Zellschichten abtragen werden. Zudem findet eine weitere Reduktion vermutlich durch Auslaugung oder Abbau der GA während des Garprozesses statt. Pellkartoffeln weisen höhere GA-Gehalte als Salzkartoffeln auf. Der Bereich der Augen und die Pelle bei Pellkartoffeln sollten gerade für vulnerable Gruppen entfernt werden

Bei großzügiger Entfernung der Schale erscheint bei Betrachtung des ausgewählten Sortensets sogar die Verwendung gekeimter Kartoffeln zur Verwendung als Salzkartoffeln unproblematisch. Allerdings sollten weitere Versuchsjahre und ein größeres Sortenspektrum betrachtet werden, bevor eine gesicherte Aussage getroffen werden kann. Empfehlungen die Schale zu entfernen und zur Sicherheit auf ungekeimte Kartoffeln zurückzugreifen und bei beginnender Keimung den Bereich der Augen großzügig zu entfernen werden durch die vorliegende Untersuchung grundsätzlich bestätigt.

4 Verwertung der Ergebnisse

- 4 Projekttreffen mit dem Projektbegleitenden Ausschuss im Berichtszeitraum
- Abschlussarbeit an der Hochschule Fulda 2024
- Vortrag vor Europatat Mai 2026
- Vortrag vor Unika Gremien kann bei Bedarf ermöglicht werden (z.B. Frühsommer 2026)
- Eine Publikation Kartoffelbau bis Ende 2026
- Zwei Publikationen in peer-review Journalen (ab 2026)

5 Erklärung zur Ausgaben- und Zeitplanung

Aufgrund des verspäteten Projektstarts und einzelner technischer Probleme (defekte Nadel am TimsTOF fleX MALDI-2 an der Universität Bielefeld; wartungsbedürftige Vakuumpumpe Gefriertrocknungsanlage, Defekte Pumpe HPAEC, notwendige Reinigung nach Messung unverdünnter Proben und verspäteter Technikertermin LC-MS/MS am MRI) hat sich ein Teil der geplanten Ausgaben verschoben. Die ursprünglich für 2023 geplante Anschaffung einer neuen Pumpe für die Gefriertrocknung am MRI entfiel nach Rücksprache mit dem QS Wissenschaftsfond zugunsten eines deutlich günstigeren Pumpenwartungs-Kits. Die restlichen Mittel, die für die Anschaffung der neuen Pumpe veranschlagt waren, wurden nach Rücksprache mit dem QS Wissenschaftsfond zunächst in Verbrauchsmittel umgewidmet. Anschließend wurden nach Rücksprache mit dem QS Wissenschaftsfond Mittel für eine unvorhergesehene Wartung der HPAEC-Pumpe am MRI, welche für die Analyse der löslichen Zucker benötigt wurde, verwendet. Die geplanten Reise- und Sachmittel wurden teilweise erst in 2025 in Anspruch genommen und betragen für die gesamte Projektlaufzeit 433,44 €. Die Investitionen lagen bei 2904,74 €. In der Projektlaufzeit wurden insgesamt 29.233,87 € ausgegeben, wobei der Großteil für Sachmittel in Höhe von insgesamt 25.895,69 € aufgewendet wurde. Eine detaillierte Belegliste zum Verwendungsnachweis für das vorliegende Projekt wurde vom MRI am 13. Januar 2026 übermittelt.

Tabelle 3: Angepasste Meilensteinplanung.

Monat/Jahr	Meilensteine (MS)		Forschungsstelle
08/2024	MS 1	Die Proben für weitere Untersuchungen wurden erfolgreich generiert.	VSD, MRI
10/2025	MS 2	Garversuche wurden durchgeführt und Proben hieraus generiert. Die Konzentration der Haupt-GA in rohen und zubereiteten keimenden Speisekartoffeln ist bekannt.	MRI
10/2025	MS 3	Eine metabolische Karte wurde erstellt.	MRI
10/2025	MS 4	Die Regulation der Biosynthese während der Keimung ist aufgeklärt.	URO

Literaturverzeichnis

1. *BLE*: Pro-Kopf-Verbrauch von Kartoffeln erstmals wieder über 60 Kilogramm. Bundesinformationszentrum Landwirtschaft, 2024
2. *BfR*: Speisekartoffeln sollten niedrige Gehalte an Glykoalkaloiden (Solanin) enthalten. Stellungnahme 010, 2018, doi: <https://doi.org/10.17590/20180423-085250>
3. *Schrenk D, Bignami M, Bodin L, Chipman JK, del Mazo J, Hogstrand C, Hoogenboom L, Leblanc JC, Nebbia CS*: Risk assessment of glycoalkaloids in feed and food, in particular in potatoes and potato-derived products. *EFSA Journal* 18 (8), e06222, 2020
4. *Koffi GY, Remaud-Simeon M, Due AE, Combes D*: Isolation and chemoenzymatic treatment of glycoalkaloids from green, sprouting and rotting *Solanum tuberosum* potatoes for solanidine recovery. *Food chemistry* 220, 257-265, 2017
5. *Şengül M, Keleş F, Keleş M*: The effect of storage conditions (temperature, light, time) and variety on the glycoalkaloid content of potato tubers and sprouts. *Food Control* 15 (4), 281-286, 2004
6. *Ha M, Kwak JH, Kim Y, Zee OP*: Direct analysis for the distribution of toxic glycoalkaloids in potato tuber tissue using matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometric imaging. *Food Chemistry* 133 (4), 1155-1162, 2012
7. *Deng Y, He M, Feng F, Feng X, Zhang Y, Zhang F*: The distribution and changes of glycoalkaloids in potato tubers under different storage time based on MALDI-TOF mass spectrometry imaging. *Talanta* 221, 121453, 2021
8. *Distl M*: Entwicklung von Nachweisverfahren für toxische *Solanum* Glykoalkaloide und ihre Anwendung in Kartoffeln und daraus zubereiteten Produkten, 2007
9. *Haase NU*: Glycoalkaloid concentration in potato tubers related to storage and consumer offering. *Potato Research* 53 (4), 297-307, 2010
10. *Friedman M, Huang V, Quiambao Q, Noritake S, Liu J, Kwon O, Chintalapati S, Young J, Levin CE, Tam C, Cheng LW, Land KM*: Potato peels and their bioactive glycoalkaloids and phenolic compounds inhibit the growth of pathogenic trichomonads. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 66 (30), 7942-7947, 2018, doi: 10.1021/acs.jafc.8b01726
11. *Baur S, Frank O, Hausladen H, Hückelhoven R, Hofmann T, Eisenreich W, Dawid C*: Biosynthesis of α -solanine and α -chaconine in potato leaves (*Solanum tuberosum* L.) – A $^{13}\text{CO}_2$ study. *Food Chemistry* 365, 130461, 2021
12. *McCue KF, Shepherd LV, Allen PV, Maccree MM, Rockhold DR, Corsini DL, Davies HV, Belknap WR*: Metabolic compensation of steroidal glycoalkaloid biosynthesis in transgenic potato tubers: using reverse genetics to confirm the in vivo enzyme function of a steroidal alkaloid galactosyltransferase. *Plant Science* 168 (1), 267-273, 2005, doi: 10.1016/j.plantsci.2004.08.006
13. *McCue KF, Allen PV, Shepherd LV, Blake A, Whitworth J, Maccree MM, Rockhold DR, Stewart D, Davies HV, Belknap WR*: The primary in vivo steroidal alkaloid glucosyltransferase from potato. *Phytochemistry* 67 (15), 1590-1597, 2006, doi: 10.1016/j.phytochem.2005.09.037
14. *McCue KF, Allen PV, Shepherd LV, Blake A, Maccree MM, Rockhold DR, Novy RG, Stewart D, Davies HV, Belknap WR*: Potato glycoesterol rhamnosyltransferase, the terminal step in triose side-chain biosynthesis. *Phytochemistry* 68 (3), 327-334, 2007, doi: 10.1016/j.phytochem.2006.10.025
15. *Ginzberg I, Tokuhisa JG, Veilleux RE*: Potato steroidal glycoalkaloids: biosynthesis and genetic manipulation. *Potato Research* 52, 1-15, 2009

16. *McCue KF, Rockhold DR, Chhan A, Belknap WR*: Structure of two *Solanum tuberosum* steroidal glycoalkaloid glycosyltransferase genes and expression of their promoters in transgenic potatoes. *American journal of potato research* 88, 485-492, 2011
17. *Akiyama R, Watanabe B, Nakayasu M, Lee HJ, Kato J, Umemoto N, Muranaka T, Saito K, Sugimoto Y, Mizutani M*: The biosynthetic pathway of potato solanidanes diverged from that of spirosolanes due to evolution of a dioxygenase. *Nature communications* 12 (1), 1300, 2021
18. *Vos PG, Paulo MJ, Bourke PM, Maliepaard CA, van Eeuwijk FA, Visser RG, van Eck HJ*: GWAS in tetraploid potato: Identification and validation of SNP markers associated with glycoalkaloid content. *Molecular Breeding* 42 (12), 76, 2022
19. *Unbekannt*: Beschreibende Sortenliste Kartoffeln 2020. Bundessortenamt, 2020
20. *KOMMISSION DE*: EMPFEHLUNG (EU) 2022/561 DER KOMMISSION vom 6. April 2022 betreffend die Überwachung des Vorkommens von Glykoalkaloiden in Kartoffeln und Kartoffelerzeugnissen. *Amtsblatt der Europäischen Union, EMPFEHLUNG (EU) 2022/561 DER KOMMISSION*, L 108/166 - L 108/167, 2022
21. *Hellenäs KE, Branzell C, Johnsson H, Slanina P*: High levels of glycoalkaloids in the established swedish potato variety Magnum Bonum. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 68 (2), 249-255, 1995, doi: 10.1002/jsfa.2740680217
22. *Raters MS, Renate; Heckel, Frank*: Glycoalkaloid transformation during potato crisps production? Method validation and industrial trial. *European Food Research and Technology*, 2024, doi: <https://doi.org/10.1007/s00217-023-04463-y>
23. *Nema PK, Ramayya N, Duncan E, Niranjana K*: Potato glycoalkaloids: formation and strategies for mitigation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88 (11), 1869-1881, 2008
24. *Akiyama R, Terami D, Noda A, Watanabe B, Umemoto N, Muranaka T, Saito K, Sugimoto Y, Mizutani M*: Two reductases complete steroidal glycoalkaloids biosynthesis in potato. *New Phytologist* 245 (6), 2632-2644, 2025, doi: <https://doi.org/10.1111/nph.20411>
25. *Pfaffl MW*: A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic acids research* 29 (9), e45-e45, 2001
26. *Pham GM, Hamilton JP, Wood JC, Burke JT, Zhao H, Vaillancourt B, Ou S, Jiang J, Buell CR*: Construction of a chromosome-scale long-read reference genome assembly for potato. *GigaScience* 9 (9), giaa100, 2020

Max Rubner-Institut
Bundforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel

Adresse Haid-und-Neu-Straße 9, 76131 Karlsruhe

Telefon +49 (0)721 6625 201

Fax +49 (0)721 6625 111

E-Mail praesidentin@mri.bund.de

Internet www.mri.bund.de