INHALTSVERZEICHNIS

1 ALLTAG OHNE ZUCKER IM 21. JAHRHUNDERT – EINE (UN)MÖGLICHKEIT ? 6
2 STEVIA REBAUDIANA – EINE PFLANZE FÜR EUROPAS MITTELBREITEN ? 8
2.1 Naturräumliche Verbreitung, Entdeckung und Anbauregionen 8
2.2 Wachstumsbedingungen und Kulturansprüche 11
2.2.1 Aus dem Leben einer Stevia-Pflanze 11
2.2.2 Anzucht und Kultur von Stevia-Pflanzen unter ausgewählten Wachstumsbedingungen 15
2.2.2.1 Anbau von Stevia rebaudiana 15
2.2.2.2 Kultur im Gewächshaus 19
2.2.2.3 Kultur im Freien unter verschiedenen Bedingungen 20
2.3 Vermehrung von Stevia rebaudiana 25
2.3.1 Mögliche Methoden der Vermehrung 25
2.3.2 Anwendung der Stecklingsvermehrung 28
2.3.3 Anwendung des Markottierens 30
2.4 Stevia-Süße über Jahre? 32
2.4.1 Ernte und Aufbewahrung von Stevia-Blättern 32
2.4.1.1 Theoretische Grundlagen der Ernte und Konservierung 32
2.4.1.2 Umsetzung der Konservierungsmethoden 33
2.4.2 Überwinterung von Stevia-Pflanzen 36
3 DIE SÜSSE AUS DEM BLATT 38
3.1 Inhaltsstoffe der Stevia-Pflanze 38
3.1.1 Süße und nicht-süße Bestandteile 38
3.1.1.1 Biosynthese von Steviolglycosiden 39
3.1.1.2 Steviosid, Rebaudiosid A und weitere Steviolglycoside 43
3.1.1.3 Weitere (nicht-süße) Verbindungen 48
3.1.2 Analyse der (süßen) Inhaltsstoffe 52
3.1.2.1 Mikroskopische Betrachtung von Blatt und Blattextrakt 52
3.1.2.2 Nachweis von Stevia-Extrakt-Bestandteilen mit Dünnschichtchromatographie 55
3.1.2.2.1 Vorversuch zur vergleichenden Dünnschichtchromatographie 55
3.1.2.2.2 Erste vergleichende Dünnschichtchromatographie 59

3.1.2.2.3 Verbesserte vergleichende Dünnschichtchromatographie 62
3.2 Methoden der Steviolglycosid-Gewinnung 66
3.2.1 Eine Auswahl traditioneller und moderner Verfahren 66
3.2.2 Extraktion der Steviolglycoside aus pflanzlichem Material 68
3.2.2.1 Auskochen mit Wasser 68
3.2.2.2 Extraktion mit Ethanol 72
3.2.3 Reinigung des Rohextrakts 74
3.2.3.1 Fällung unerwünschter Stoffe mit Kalkwasser 74
3.2.3.2 Adsorption von Fremdstoffen an Aktivkohle 78
3.2.3.3 Herkömmliches Extraktions- und Reinigungsverfahren 80
3.3 Stabilität der Steviolglycoside 84
3.3.1 Diterpenglycoside unter dem Einfluss verschiedener Bedingungen 84
3.3.2 Empfindlichkeit gegenüber hohen Temperaturen, sauren und alkalischen Lösungen und Enzymen 86
3.3.2.1 Kochen wässriger Steviolglycosid-Lösung 86
3.3.2.2 Einfluss des pH-Werts 88
3.3.2.3 Enzymatische Spaltung von Steviolglycosiden mit β-Glucosidase 90
4 VON DER SÜSSE ZU DEN SÜSSIGKEITEN 94
4.1 Stevia als Süßungsmittel 94
4.1.1 Geschmackliche Eigenschaften gegenüber Saccharose 94
4.1.2 Herstellung von Süßspeisen mit Stevia-Süße 96
4.1.2.1 Geschmackstest mit Vanille-Pudding 96
4.1.2.2 Rezept Apfel-Birnen-Kuchen 101
4.1.2.3 Rezept Mandel-Sandkuchen 105
4.1.2.4 Rezept Tarte au citron 108
4.1.2.5 Rezept Vanille-Glückskekse 110
4.1.2.6 Placebo-Geschmackstest mit Zitronenkuchen 112
4.2 Stevia im menschlichen Körper 117
4.2.1 Abbau der Steviolglycoside 117
4.2.1.1 Abbau über Steviolbiosid 117
4.2.1.2 Abbau über Rubusosid 118
4.2.1.3 Steviolglycoside im enterohepatischen Kreislauf 119
4.2.1.4 Weitere Theorien zum Stoffwechsel der Steviolglycoside 120

4.2.2 Wirkung der Süßstoffe im Körper 121
4.2.3 Stevia – zuckerfrei und sorgenfrei? 123
5 SÜSSE POTENZIALE FÜR EINE PFLANZE ? 125
5.1 Produkte mit Stevia-Süße auf dem Markt 125
5.2 Anwendungsgebiete des Honigblatts 128
5.3 (Süß)Kraft aus grünen Blättern 129
6 ZUSAMMENFASSUNG DER SEMINARARBEIT „STEVIA– SÜSSES GOLD AUS GRÜNEN BLÄTTERN ?“ 132
7 REFLEXION ÜBER DIE SEMINARARBEIT 134
8 ANHANG 136
zu 2.2.2.1 Anbau von Stevia rebaudiana 136
zu 2.2.2.3 Kultur im Freien unter verschiedenen Bedingungen 144
zu 3.1.2.2.1 Vorversuch zur vergleichenden Dünnschichtchromatographie 148
zu 3.1.2.2.2 Erste vergleichenden Dünnschichtchromatographie 148
zu 3.1.2.2.3 Verbesserte vergleichende Dünnschichtchromatographie 148
zu 3.3.2.2 Stabilität in Abhängigkeit vom pH-Wert 150
zu 4.1.2.1 Geschmackstest mit Vanille-Pudding 151
zu 4.1.2.2 Rezept Apfel-Birnen-Kuchen 154
zu 4.1.2.3 Rezept Mandel-Sandkuchen 155
zu 4.1.2.6 Placebo-Geschmackstest mit Zitronenkuchen 157
9 QUELLENVERZEICHNIS 159
9.1 Literaturverzeichnis 159
9.2 Internetverzeichnis 160
10 ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS 162
10.1 Abbildungsverzeichnis 162
10.2 Tabellenverzeichnis 171
11 ERKLÄRUNG ZUM SELBSTSTÄNDIGEN ERARBEITEN DER SEMINARARBEIT 172

1 ALLTAG OHNE ZUCKER IM 21. JAHRHUNDERT – EINE (UN)MÖGLICHKEIT ?

Die Menschheit liebt Süßes. Vom Beginn menschlicher Existenz an gilt die Geschmackrichtung „süß“ als Indikator für genießbare, ungiftige Lebensmittel, welche dem Körper Energie bereitstellen. Obwohl in der Gegenwart ein bedeutender Teil der Weltbevölkerung mit Nahrung mehr als ausreichend versorgt ist, ist die Neigung zu süßen Speisen erhalten geblieben (nach Lit1, S.12).

Zumindest in den westlichen Ländern dominiert hierbei eine aus der Zuckerrübe oder dem Zuckerrohr gewonnene Substanz: Saccharose. Neben Stärke stellt sie das häufigste Kohlenhydrat der menschlichen Ernährung dar. Mit rund 4000 Kilokalorien je Kilogramm wird der Zuckerkonsum besonders in den Industrienationen fortschreitend zum Verhängnis für die Gesundheit. Während eine Zuckermenge von 50 bis 60 Gramm pro Tag empfohlen wird, liegt der tägliche Konsum in vielen Ländern bei (weit) mehr als dem Doppelten – auch in Deutschland. Die Hälfte der deutschen Bevölkerung ist übergewichtig – in den USA liegt dieser Bevölkerungsanteil bereits bei rund 66 Prozent. Damit verbunden ist eine kontinuierliche Ausbreitung von allgemein als Zivilisationskrankheiten bekannten Erkrankungen wie Diabetes, Bluthochdruck, Herzinfarkt, Schlaganfall, Thrombosen, Gicht oder Arthrose in bereits früheren Lebensjahren als bisher (nach Lit1, S.48/59).

Eine Vielzahl von Alternativstoffen zu Saccharose sollen eine Gewichtskontrolle und -reduktion ermöglichen. Dieser Trend kalorienarmer Lebensmittel nützt hierbei aus, dass sich die Geschmacksrezeptoren der Zunge und Schleimhäute von Nase und Rachen in Abgrenzung zu den Empfindungen *bitter*, *salzig*, *sauer* und *umami (vollmundig)* leicht durch nicht ernährende Süßungsmittel in die Irre führen lassen. Inzwischen ist eine breite Palette an natürlichen und synthetischen Süßstoffen entdeckt und zum Teil für den Verbraucher verfügbar (s.Tab1).

Süßungsmittel	Süßkraft gegenüber Saccharose	E-Nummer
Acesulfam-K	130-200	950
Aspartam	200	951
Cyclamat	30-50	952
Neohesperidin	600	959
Neotam	7000-13000	961
Saccharin	300-500	954
Sorbit	0,5	420
Sucralose	600	955
Thaumatin	2000-3000	957
Xylit	1	967

Tab 1 Auswahl verfügbarer Süßstoffe

Einige künstliche Süßungsmittel sind Thema immer wiederkehrender Diskussionen und Gerüchte aufgrund ihrer gesundheitlichen (Un)Bedenklichkeit. Während Cyclamat und Saccharin im Verruf stehen, karzinogen zu sein, wird Aspartam im Körper nachweislich unter anderem zu giftigem Methanol abgebaut. Das daraus entstehende, krebserregende Formaldehyd (Methanal) stellt den Nutzen dieses zugelassenen Süßungsmittels in Frage. Als unbedenklich

gelten dagegen natürliche Süßstoffe wie Sorbit, Thaumatin oder Xylit (nach Lit1, S.21-27).

Seit knapp einem Jahr gibt es unter den pflanzlichen Süßungsmittel für Verbraucher und Lebensmittelindustrie gleichermaßen eine Wahlmöglichkeit mehr in Deutschland: der Süßstoff der Pflanze *Stevia rebaudiana*. Obwohl Saccharose einen festen Platz in der Ernährung eingenommen hat, werden für eine eher unscheinbare Pflanze aus Südamerika große Potenziale prophezeit:

„Stevia [sei] das natürlichste, sicherste und gesündeste

Süßungsmittel auf dieser Erde.“ (Int1)

Ausgehend von dieser glorifizierenden Einschätzung des neuartig erscheinenden Süßungsmittels hat sich ein Interesse am Anbau der Pflanzen, der Gewinnung des enthaltenen Süßstoffs und dessen Verwendung im Lebensmittelbereich entwickelt.

In der vorliegenden Seminararbeit wird aus diesem Grund das verschiedene Gebiete umfassende Thema *„Stevia – Süßes Gold aus grünen Blättern?“* bearbeitet. Ziel der Ausführungen ist es, in Theorie und Praxis den Weg vom Anbau der Stevia-Pflanzen bis zur Herstellung von Lebensmitteln mit dem extrahierten Süßstoff zu verfolgen. Die Auseinandersetzung mit der Pflanze Stevia rebaudiana mündet schließlich in der Besprechung von Nutzen und Risiken des in der EU legalisierten Süßstoffs sowie dessen Potenziale für die private und kommerzielle Süßstoffgewinnung in Europa.

2 STEVIA REBAUDIANA – EINE PFLANZE FÜR EUROPAS MITTELBREITEN ?

Der europäische Kontinent weist neben einem gemäßigten Klima überwiegend nährstoffreiche, fruchtbare Böden und ausreichend verfügbare Wasserressourcen auf. Viele Pflanzen können für die Verwendung im Nahrungsmittelbereich in großem Maßstab kultiviert werden. Greift man Süddeutschland aus der europäischen Landkarte heraus, so bietet der Gäuboden die Grundlage für reiche Mais-, Weizen- und Zuckerrübenernten. Im Zusammenhang mit der Zulassung des Süßstoffs der paraguayischen Pflanze Stevia rebaudiana in Deutschland, beschäftigt sich der erste Teil der Seminararbeit mit dem Anbau, Wachstum, der Vermehrung und Verbreitung der Pflanze unter südamerikanischen und mitteleuropäischen Bedingungen. Dabei soll geklärt werden, inwiefern das gemäßigte Klima und die fruchtbare Böden Mitteleuropas eine Stevia-Kultur ermöglichen.

2.1 Naturräumliche Verbreitung, Entdeckung und Anbauregionen

Seit Jahrhunderten nutzen die Guarani-Indianer des heutigen Paraguays die Süßkraft der Stevia rebaudiana zur Milderung der Bitterkeit von Arzneimitteln und zum Süßen von Getränken. Die in Europa erst in den letzten zwei Jahrzehnten an Bedeutung gewinnende Staude stammt aus dem östlichen Grenzgebiet Paraguays zu Brasilien (Amambai, s. Abb1). Über den gesamten amerikanischen Kontinent sind verschiedene Stevia-Arten verbreitet, von denen allein Stevia rebaudiana aufgrund ihres Süßstoffs von großer (wirtschaftlicher) Bedeutung ist (nach Lit1, S.31-33/ Int1/ Int2/ Int3).

Abb 1 Heimat der Stevia rebaudiana

Aus dem 16. Jahrhundert ist ein erster Kontakt Europas mit der Gattung Stevia durch spanische Explorationen datiert. Als offizieller „Entdecker“ gilt Moisés Santiago Bertoni, welcher nach zweijährigem Studium die Pflanze im Jahr 1889 als Eupatorium rebaudianum beschreibt. Nach Korrektur der Benennung im Jahr 1906 trägt die paraguayische Staude den Namen *Stevia rebaudiana (Bertoni) Hemsly* (nach Lit1, S.30/ Int2).

Mit der Entdeckung verschiedener Süßstoffe in den Blättern der Stevia rebaudiana (1908) und der Isolation von Steviosid (1931) wird die Pflanze weltweit interessant. Während des Zweiten Weltkrieges wird in Cornwall und Devon am Anbau der Stauden zur Substitution von, im Krieg nicht ausreichend verfügbaren, Zucker geforscht. Nach 1945 verliert das Projekt an Bedeutung und das Vorhaben, Zucker zu ersetzen, wird

durch die einstigen Alliierten nicht weiter verfolgt. Im Gegensatz dazu beginnt in der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts der kommerzielle Anbau in Asien und Südamerika. Aus Paraguay wird von einer ersten großflächigen Kultur aus dem Jahr 1964 berichtet. Zehn Jahre früher startet Japan seine Bemühungen, mit dem Süßstoff aus der Stevia-Pflanze über eine Alternative zu Zucker zu verfügen. Anfang der 70er Jahre sollen Samen und ein Großteil der Wildpflanzen von Südamerika nach Asien transportiert worden sein, um dort der Forschung und der kommerziellen Nutzung zu dienen. Was mit ersten Stevia-Produkten 1975 in japanischen Supermärkten begonnen hat, macht Japan zum größten Konsumenten von Stevia-Süßstoff weltweit. Jährlich werden rund 200 t gereinigtes Süßungsmittel konsumiert, was etwa 40.000 t Saccharose entspricht (nach Int1-5).

Der Anbau von Stevia rebaudiana weitet sich rasch auf weitere asiatische Länder (China, Thailand, Taiwan) aus, darunter stellt China den Hauptproduzenten dar (bis zu 80% der gehandelten Blätter). Auch die kommerzielle Verwendung des aus der Pflanze gewonnen Süßstoffs obliegt zunächst dem asiatischen Raum: China, Indonesien, Japan, (Süd-)Korea und Taiwan. In den USA führt die Stevia-Süße längere Zeit ein Schattendasein in einer rechtlichen Grauzone – ähnlich wie in Deutschland. Ab 1996 sind zwar Produkte mit Stevia in der Bundesrepublik käuflich erwerblich, ein Antrag auf eine offizielle Zulassung wird von der zuständigen EU-Kommission jedoch abgelehnt. In der Folge werden Lebensmittel mit Extrakten der Stevia rebaudiana vom europäischen Markt genommen. Ein neues Gutachten im Jahr 2011 bringt schließlich die Zulassung ab dem 11. November für Europa hervor, welche nach 20 Tagen in Kraft tritt (nach Lit1, S.61; Int4, Int6-8).

Der traditionelle Absatzmarkt erstreckt sich dennoch auf mehrere südostasiatische und asiatische Länder, wo neben Südamerika die Hauptproduktion stattfindet. Auch in Europa könnte sich die Stevia rebaudiana als Kulturpflanze etablieren, zumal vom gewerbsmäßigen Anbau in Großbritannien, Frankreich, Portugal und Spanien berichtet wird. Die Forschung und Kultivierung auf deutschem Boden findet ihren Ursprung 2002 im Rheinland in Zusammenarbeit mit der Universität Hohenheim. Meldungen über eine großflächige Produktion der Stevia rebaudiana stehen (noch) aus (nach Lit1, S.80f; Int2, Int3, Int5, Int8-12).

Die ursprüngliche Heimat der Stevia rebaudiana im Hochland zwischen Paraguay und Brasilien ist zu einer universellen Heimat in der Gegenwart geworden. Stevia-Pflanzen finden sich mittlerweile auf fünf Kontinenten in Regionen mit geeigneten Wachstumsbedingungen (s. Abb2).

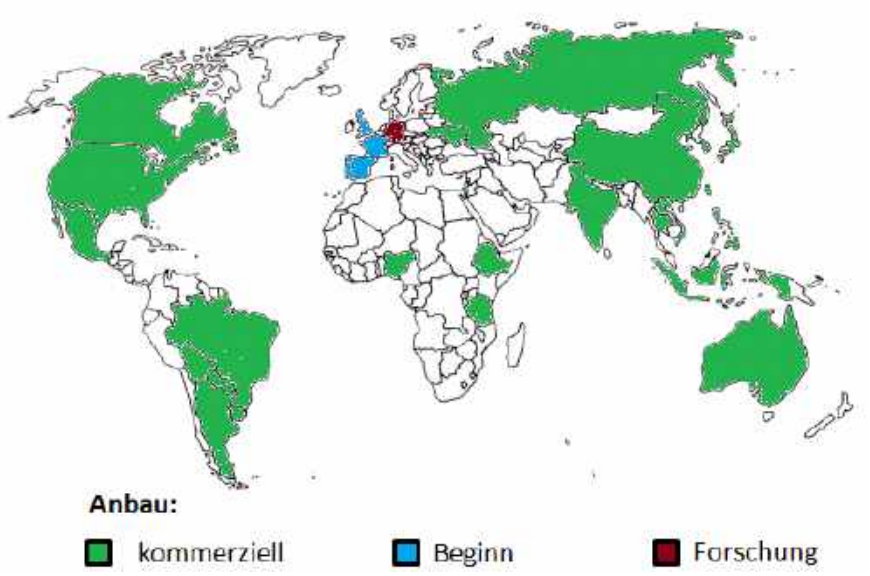


Abb 2 Anbaugebiete der Stevia rebaudiana

2.2 Wachstumsbedingungen und Kulturansprüche

Klima, Boden und die Verfügbarkeit von Wasser sind in den mehr als dreißig Staaten des kommerziellen Anbaus von Stevia rebaudiana für das Wachstum der Pflanzen entscheidend. Von diesen und weiteren Faktoren hängt ab, inwiefern ein Land zur Stevia-Kultur geeignet ist und wie erfolgreich die Ernte ausfallen wird. Die Kulturansprüche und Besonderheiten der Stevia rebaudiana (Bertoni) lassen sich auf allgemeine Kriterien bezüglich Anbau, Entwicklung, Bedürfnisse und Pflege zusammenführen.

2.2.1 Aus dem Leben einer Stevia-Pflanze

Von Kulturansprüchen „der“ Stevia zu sprechen, ist nahezu unmöglich und dies aus einem einfachen Grund. Die Gattung der Stevien umfasst mehr als 200 verschiedene Pflanzen, welche als Asternartige (Asterales) zu den Korbblütlern (Asteraceae) gezählt werden. Darunter befinden sich nur zwei Arten, welche in ihren Blättern den Stevia-Süßstoff bilden (nach Lit1, S.30/S.32; Int5).

Caá Hêê, wie die bei subtropischem Klima mehrjährige Staude auf Guaraní genannt wird, ist eine Kurztagpflanze. Synonyme Namen erstrecken sich von Honigblatt, Honigkraut über Süßkraut und Süßpflanze bis zu Zuckerpflanze. In ihrer paraguayischen Heimat wächst sie auf feuchten sandig-tonigen, teilweise lehmhaltigen und tendenziell nährstoffarmen Böden. Das Klima ist halbfeucht und frostfrei und ermöglicht den Wildpflanzen eine Wuchshöhe von bis zu 80 Zentimetern. Die Größe der kultivierten Stevia rebaudiana variiert nach der Züchtung und reicht bis zu einem Meter (nach Lit1, S.30-33; Int8, Int13)

Die Pflanze Stevia rebaudiana (Bertoni) weist je nach Sorte ein leicht unterschiedliches Aussehen auf. Grundsätzlich geht aus einem gering verästelten Wurzelstock ein leicht flaumiger und vom unteren Ende her verholzter Stängel hervor. An den Haupt- und Nebentrieben sind die stiellosen Blätter regelmäßig gegenständig angeordnet und im Durchschnitt zwei bis vier Zentimeter lang. Ihre fein behaarte Oberfläche ist ebenso charakteristisch wie ihre länglich-lanzenförmige Form mit einer leicht abgerundeten Spitze und gesägtem Blattrand. Junge Triebe entwickeln sich vornehmlich aus den Blattachseln heraus. Bei kürzer werdenden Tagen – ein Signal an die Pflanze zur Vermehrung – bilden sich aus den Triebspitzen Trugdolden mit weißen bis weiß-violetten, fünfgliedrigen Blüten heraus. Nach der Bestäubung durch Wind oder Insekten sollen fünffach gerippte, spindelförmige Samen mit Flughaaren, welche an den

Abb 3 Stevia-Pflanze

Gewöhnlichen Löwenzahn erinnern, den Fortbestand für das kommende Jahr sichern (nach Lit1 S.30-33/S.65f; Int5).

Abb 4 Stevia-Blüten und Samen

Abb 5 Samen des Löwenzahns

Die Anzucht des Honigkrauts aus Samen ist prinzipiell möglich, jedoch mit einem vergleichsweise hohen Aufwand verbunden. Je nach Witterung während der Samenernte kann die Keimfähigkeit stark schwanken und gegen Null sinken. Zur Förderung der Keimung sollte nach der Aussaat auf geeignetem Anzuchtsubstrat (z.B. nicht-gedüngte Anzuchterde) eine Temperatur von unter 22°C sowie eine Bedeckung der Samen mit Erde möglichst vermieden werden. Eventuell kann eine dünne Schicht mittelfeinen Quarzsandes über die Samen gestreut werden, damit der Bodenschluss des Saatguts mit der Erde besser ist. Eine ausreichende Lichtzufuhr muss gewährleistet werden, da es sich bei dem südamerikanischen Korbblütler um einen sogenannten Lichtkeimer handelt. Erfolgt der Anbau in den Wintermonaten kann eine künstliche Belichtung mit Wachstumslampen erforderlich sein. Eine Abdeckung des Anbaugefäßes mit durchsichtiger Folie oder ein Zimmergewächshaus nach dem Anbau und die Befeuchtung der Erde wird empfohlen, da hierbei Temperatur und Luftfeuchtigkeit relativ konstant gehalten werden können. Bei 24-28°C erfolgt die Keimung je nach Belichtung innerhalb der beiden folgenden Wochen. Sind die Sämlinge auf eine Größe von ca. fünf Zentimetern angewachsen, beginnt die Abhärtung durch kontinuierliche Öffnung der Abdeckung und einer somit sinkenden Luftfeuchtigkeit. Nach einer Woche sind die Pflanzen zum Pikieren geeignet (nach Lit1, S. 87-90).

Heranwachsende Pflanzen können in der Folge auf verschiedene Weise kultiviert werden. Dabei ist es von Vorteil, die Bedingungen von Boden, Klima und Nährstoffzufuhr in Paraguay so gut wie im Anbaugebiet möglich zu imitieren. Die Böden sollen den Stevia rebaudiana Stauden einen festen Stand und zugleich eine ausreichende Nährstoff- und Wasserversorgung sichern. Da im Hochland von Amambai die Erde sandig und zum Teil moorig und unfruchtbar ist, sind die Ansprüche des Süßkrauts an Nährstoffen dennoch gering. Feuchte, lehmig-sandige Böden scheinen daher auch beim Anbau außerhalb des Heimatlandes von Vorteil (nach Lit1, S.66f.).

Eine dichte Bepflanzung sowie zusätzliche Düngergaben können hingegen das Pflanzenwachstum und die Bildung der Blätter anregen und buschige Stauden

hervorbringen. Der Bedarf der Pflanze an Phosphor und Stickstoff kann sowohl über organische Gründünger (z.B. Lupinen, Raps, Senf), welche im Herbst vor der Kultur in das bepflanzte Erdreich eingearbeitet werden, sowie durch Knochenmehl, Asche, Pottasche oder Mineraldünger gedeckt werden. Der beste Ertrag werde nach Forschungen zufolge bei einem Nährstoffverhältnis von Stickstoff, Phosphat und Kalium von 60:30:45 Kilogramm je Hektar Anbaufläche erbracht. Im Gegensatz dazu erhöht Überdüngung die Anfälligkeit gegenüber Schädlingen (nach Lit1, S.68-71; Int3, Int5).

„Stevia wird nur selten von Schadinsekten befallen“ (Int14). Diese Aussage mag zwar ihre Richtigkeit haben, jedoch kann das südamerikanische Honigblatt von weit mehr als „Schadinsekten“ befallen werden. Meist helfen zur Bekämpfung nur zwei Methoden: der Einsatz parasitärer, die Schädlinge bekämpfender Insekten oder der Rückschnitt betroffener Pflanzenpartien. Neben den tierischen Schmarotzern Blattlaus, Dickmaulrüssler(-larve), Schnecke, Spinnmilbe und Weiße Fliege greifen vor allem Pilze das gesunde Wachstum der Stevia rebaudiana an. Zu ihnen zählen Echter Mehltau, Grauschimmel, Rostpilze und Schwärzerpilz. Durch Saftentzug und Blockierung von Nährstoffleitungsbahnen führen sie zu Missbildungen und der Schwächung der Pflanzen. Das Beste Mittel zur Prävention von Schädlingsbefall ist eine optimale Kultur, welche sich unter vielen Bedingungen realisieren lässt (nach Lit1, S.82-86).

Eine ganzjährige Stevia-Kultur bei verschiedenem Klima ist in Gewächshäusern möglich. Eine Temperatur von 18-20°C sollte auch nicht während kalten Monaten unterschritten werden. Ideal ist eine Auspflanzung in Gewächshausbeete im Frühjahr, da in der Folge die natürlichen Belichtungsphasen länger werden. Lichtmangel führt zum sogenannten vergeilenden Wachstum, welches eine notwendige Kontrolle des Wuchses durch Rückschnitt zur Folge hat. Dieser sollte im Gewächshaus das erste Mal bereits nach einer Pflanzenhöhe von rund zehn Zentimetern auf die Hälfte der Trieblänge erfolgen (nach Lit1, S. 76-78).

Abb 6 Stevia im Gewächshaus

Wird das Honigblatt für den privaten Gebrauch gezogen, bietet sich alternativ zum Gewächshaus auch die Möglichkeit, die Pflanzen im Zimmer oder Wintergarten zu kultivieren. Auch hier gilt, dass bei zu geringer Lichtzufuhr die Triebe der Stevia rebaudiana lang und instabil bei gleichzeitig niedriger Blattbildung wachsen. Aus diesem Grund sollen bei der Platzwahl für die Pflanzen sonnige Fensterplätze bevorzugt werden. Von einer Kultur an Nordfenstern wird abgeraten (nach Lit1, S. 79).

Wesentliche Vorteile hinsichtlich der Belichtung bietet die Kultur der Pflanzen im Freien. Einzelne Stauden können ähnliche wie andere Kübelpflanzen auf Balkon oder Terrasse an einem warmen und geschützten Ort kultiviert werden. Zur ausreichenden Versorgung mit Nährstoffen ist ein Langzeitdünger (ca. 3-5 g je Liter Pflanzenerde) am besten geeignet. Als Zuckerkraut-Stämmchen wirkt die Pflanze durchaus dekorativ. Obwohl Stevia rebaudiana in Töpfen leicht vor schlechten Witterungen und Frost durch einfaches Umstellen geschützt werden kann, gedeihen die Pflanzen am besten in Freiland-Anpflanzungen. Dies entspricht zum einen ihrem natürlichen Vorkommen, zum anderen sind sie so in großem Maß kommerziell nutzbar. Bei nicht zu dichtem, gelockertem Böden in den gemäßigten Breiten kann die Auspflanzung aufgrund der Sensibilität der Pflanzen gegenüber Frost erst ab Ende Mai erfolgen. Da die Triebe des Süßblatts leicht brechen, sollte eine möglichst windgeschützte und laue Stelle für den Anbau ausgewählt werden. Ein Pflanzabstand von 30 bis 40 Zentimeter bietet den Stauden ausreichend Platz für ein kräftiges Wachstum. Durch die hohe Sonnenscheindauer im europäischen Sommer werden das Wachstum der Pflanzen und die Blattbildung positiv beeinflusst. Werden die Triebspitzen hin und wieder geschnitten, wachsen die Stauden buschiger und setzen mehr Süßstoff-haltige Blätter an (nach Lit1, S.65f/S.72-75/S.78f).

Abb 7 Stevia im Beet

Da sich die südamerikanischen Stauden gewerbsmäßig in vielen Ländern der Erde, deren Klima von dem Paraguays deutlich abweicht, kultivieren lassen, kann insgesamt von einer relativ anspruchslosen Pflanze die Rede sein. Die theoretischen Erläuterungen zu Anbau und Kultur des paraguayischen Zuckerkrauts sollen in der Folge praktisch nachvollzogen werden.

2.2.2 Anzucht und Kultur von Stevia-Pflanzen unter ausgewählten Wachstumsbedingungen

Eine unscheinbare Pflanze, heimisch in den gebirgigen Regionen Paraguays und Brasiliens, findet ihren Weg ins Herz Europas. Generell wird die Anzucht von Stevia rebaudiana aus Samen als schwierig bewertet. Eine sich entwickelnde Pflanze gedeiht trotzdem unter einfachen Boden- und Klimabedingungen – jedenfalls kann dies der Literatur entnommen werden. Um den verschiedenen Kulturorten (Gewächshaus, Terrasse, Beet) sowie dem Einfluss von Düngern auf die Entwicklung der Pflanzen näher auf den Grund zu gehen, wird das Honigkraut selbst kultiviert.

2.2.2.1 Anbau von Stevia rebaudiana

Am Anfang der Untersuchungen steht ein erster Anbau von einzelnen Pflanzen. Aus der beobachteten Keimdauer und dem Wachstum können Erkenntnisse gewonnen werden, welche sich auf eine größere Pflanzenzahl übertragen lassen. Der genaue Ablauf des Vorversuchs sowie die Dokumentation der Beobachtungen zum Anbau und deren Auswertung werden nachgestellt im Anhang (vgl. Anhang zu 2.2.2.1, S.132) erläutert, da die erhaltene Stevia-Pflanze selbst für die weiteren Schritte im Anbau weiterer Pflanzen keine Rolle spielt.

Abb 8 Stevia rebaudiana aus erstem Anbau

Von der ersten Anzucht lassen sich zwei zu beachtende Kriterien ableiten. Bei einer Keimtemperatur um 25°C erfolgt der Austrieb binnen weniger Tage. Wird der Anbau bei kurzen Taglängen und wenig verfügbarem Sonnenlicht umgesetzt, empfiehlt es sich, die Pflanzen zusätzlich mit Wachstumslampen zu belichten, damit sie nicht übermäßig in die Länge wachsen (s. Abb 8). Auch ein Rückschnitt könnte die Bildung von Blättern mit dem Ziel einer buschigen Staude fördern.

In Anknüpfung an die erste Realisierung der Stevia-Kultur kann die Aussaat von 150 Samen zur Analyse geeigneter und ungeeigneter Kulturbedingungen durchgeführt werden.

Materialien: Anzuchterde, 3 Anzuchtplatten (à 50 Pflanzen), Stevia-Saatgut [Weigelt], Wasserflasche, Holzstäbchen, Frischhaltefolie

Aufbau und Durchführung:

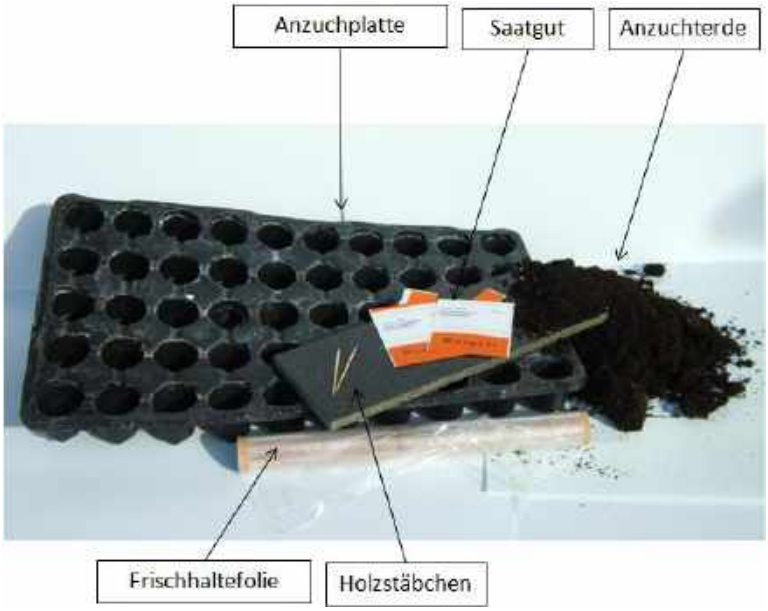


Abb 9 Materialien beim zweiten Stevia-Anbau

(1) Die Anzuchtplatten werden mit feiner Anzuchterde gefüllt und die Oberfläche geebnet.

(2) Mit einem Holzstäbchen werden die nur wenige Millimeter langen Stevia-Samen einzeln aufgetragen und leicht angedrückt.

(3) Zur Förderung der Keimung und Verbesserung des Kontaktes der Aussaat mit der Anzuchterde wird die Oberfläche der Platten mit Wasser befeuchtet.

(4) Eine Abdeckung mit Folie soll konstant warme Temperaturen und eine hohe Luftfeuchtigkeit fördern.

Die Anzuchtplatten werden zunächst vor ein Fenster bei warmer Zimmertemperatur, dann zur Verhinderung eines schnellen Längenwachstums in ein warm-temperiertes Gewächshaus gestellt.

Abb 10 Anzuchtplatten nach der Aussaat

Die Keimungsrate der Samen liegt relativ hoch bei rund 93% (139 von 150 Samen). Die Steigerung des Erfolgs gegenüber dem ersten Anbau kann an der Wahl eines anderen Saatguts und täglich längerer Lichtzufuhr während der Keimungsphase Anfang April liegen. Die Entfaltung der Sämlinge verläuft ähnlich den Veränderungen während des ersten Anbaus und lässt sich in mehrere Abschnitte gliedern.

Beobachtungen und Auswertung:

nach zwei bis vier Tagen

Ein gelb-hellgrüner Austrieb bei rund 120 Samen aufgrund der Wurzelbildung der Samenkörner und die Bildung des ersten, unbehaarten Blattpaars zu Nutzen des Wachstums durch Photosynthese sind erkennbar.

nach zwölf Tagen

133 Jungpflanzen weisen einen deutlichen Austrieb bei 10 mm Höhe auf, sechs weitere Sämlinge sind welk, was mit einer unzureichenden Wasserversorgung erklärt werden kann.

nach 30 Tagen

Durch ausreichende Bewässerung und Nährstoffversorgung wachsen 124 Pflanzen kontinuierlich. Das dritte Blattpaar weist auf ein gesundes Wachstum und intensive Photosynthese hin.

nach knapp 2 Monaten

120 gesunde, durchschnittlich 3,5 cm hohe Jungstauden gedeihen aufgrund angepasster Bewässerung und Lichtzufuhr. Mit sieben Paaren kräftiger, gegenständiger, dunkelgrüner Blättern mit leichter Behaarung zum Schutz vor Schädlingen und Verdunstung von Wasser wächst das Honigkraut buschig.

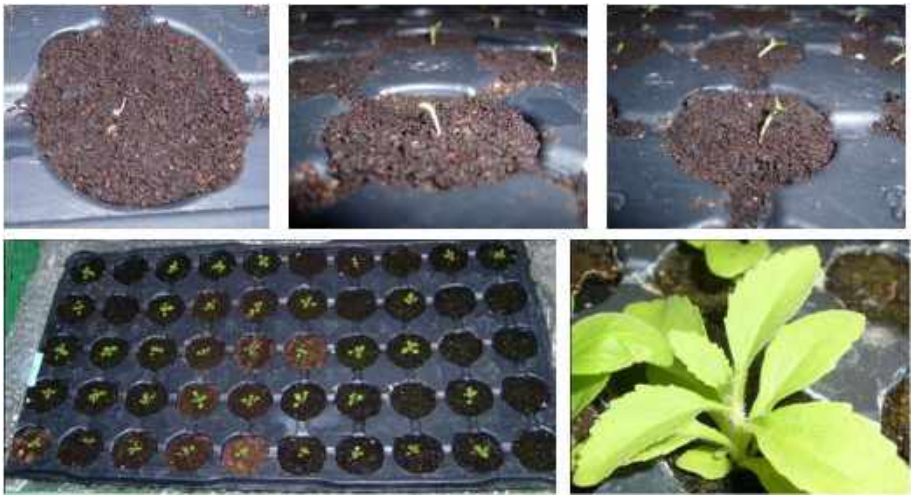


Abb 11 Wachstum und Entwicklung der Stevia rebaudiana; von links oben: Tag2, Tag 4, Tag 12, Tag 30, 2 Monate nach Anbau

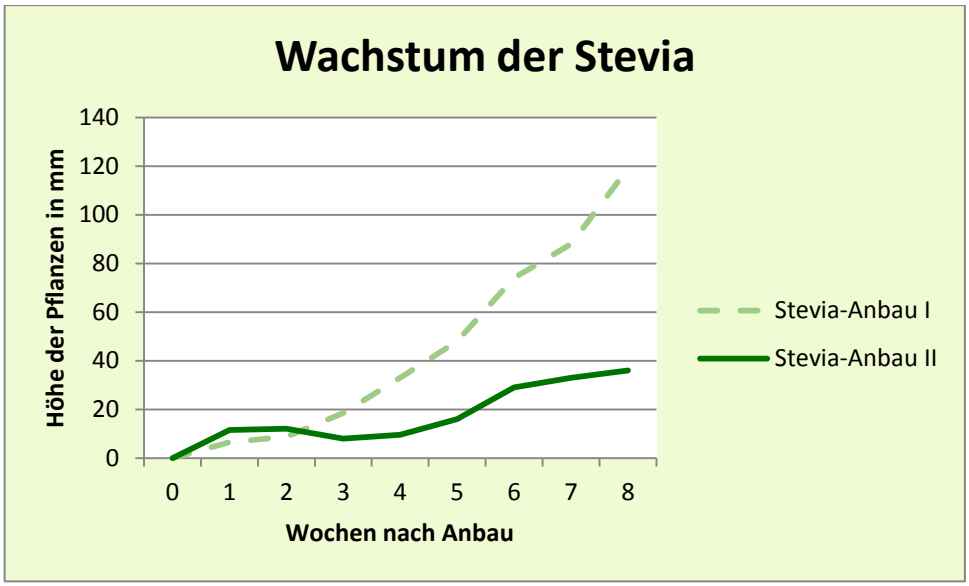


Abb 12 Längenwachstum der Stevien

Die Verlangsamung des Wachstums im Bezug auf die im Februar gesäte Stevia rebaudiana liegt in der im Monat April im Vergleich zum Februar unterschiedlichen, längeren Sonnenscheindauer pro Tag begründet (s. Abb 12). Das buschige Wachstum zeigt sich durch die Stabilisierung der Wachstumskurve auf niedrigem Niveau (Woche 1 bis 4), währenddessen die Pflanze junge Blattpaare ansetzt statt in die Länge zu wachsen.

Die Abhärtung und Gewöhnung der Jungpflanzen an Wind und schwankende Temperaturen beginnt acht Wochen nach dem Anbau. Dazu werden die Anzuchtplatten mit den kleinen Stauden tagsüber auf einen halbschattigen Platz außerhalb des Gewächshauses gestellt. So sollen die Stevia-Pflanzen auf die Kultur im Freien vorbereitet werden. Zwar sind die rund zwei Monate alten Stevia rebaudiana exemplarisch gewachsen, auf die Dauer dürfte ihr Bedarf an Mineralstoffen durch die Anzuchterde jedoch nicht mehr gedeckt werden können.

So werden die 120 Honigkraut-Stauden mit dem Ziel, die beste(n) Wachstumsbedingung(en) für den privaten Anbau in Süddeutschland herauszufinden, auf verschiedene Kulturbedingungen aufgeteilt (s. Abb 13).

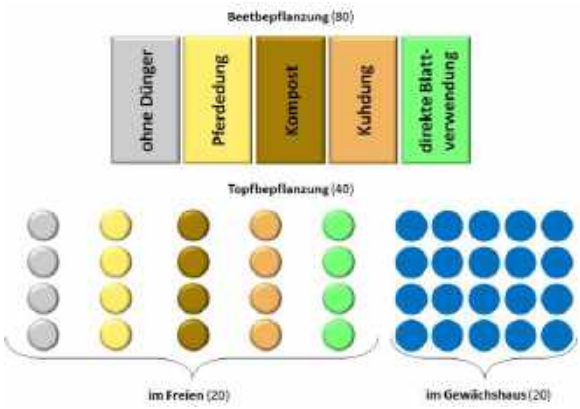


Abb 13 Aufteilung der Jungpflanze auf verschiedene Kulturbedingungen

2.2.2.2 Kultur im Gewächshaus

Etwa ein Sechstel der Jungpflanzen wird über die Sommermonate von Juni bis August im Gewächshaus weiterkultiviert. Damit die Stauden mit ausreichend Nährstoffen versorgt werden, ist ein mehrmaliges Verpflanzen in größere Töpfe nötig. Als Kultursubstrat wird dabei gewöhnliche Blumenerde verwendet.

Abb 14 Stevia aus Gewächshaus-Kultur

Das Wachstum ähnelt der Entwicklung der Zuckerpflanze aus dem ersten Anbauversuch. Das Verhältnis von Blattmasse und Pflanzengröße fällt positiver aus, da durch die intensivere Sonneneinstrahlung im Sommer die Photosynthese und damit auch die Blattbildung begünstigt werden. Zudem sind in der Blumenerde genügend Nährstoffe enthalten, um dies zu gewährleisten. Dennoch ist ein Großteil der Triebe lang und dünn, was an den matten, lichtfilternden Gewächshausscheiben liegen mag, die die Intensität des Sonnenlichts doch etwas mildern (s. Abb 14).

Kann über weiteren Raum für die südamerikanische Pflanze verfügt werden, ist eine Kultur im Gewächshaus über die Sommermonate wenig zu empfehlen. Die Blatternte fällt durch das Längenwachstum eher gering aus, sodass als Basis zur Nutzung von Stevia rebaudiana als Zuckeraustauschpflanze unter diesen Konditionen wenig Potenzial besteht. Besonders deutlich zeigt sich dies im Kontrast zur Freiland-Kultur.

2.2.2.3 Kultur im Freien unter verschiedenen Bedingungen

Insgesamt 100 Pflanzen werden zwei sich überlagernden Bedingungen ausgesetzt: Topf- oder Beetkultur sowie Variation des Düngers. Aus dieser Untersuchung soll sich eine Einschätzung des Anbaupotenzials für das Gebiet Niederbayern-Bayerischer Wald ableiten lassen. Bei der Düngung der Stevia wird auf mineralische Dünger verzichtet, um ein möglichst natürliches Produkt zu erhalten, welches so unbelastet wie möglich ist. Alternativlösungen zu mineralischen Düngemitteln bieten sich für die Bio-Kultur des Süßblatts durch die Landwirtschaft im niederbayerischen Raum in Form von Kompost, Kuh- und Pferdemist. Es wird angenommen, dass diese natürlichen Düngemittel in der Region für die private sowie kommerzielle Verwendung in ausreichendem Maß zur Verfügung stehen.

Ausgangspunkt für die Durchführung dieses Vorhabens ist die Schaffung einer abgegrenzten Beetfläche, deren Beschreibung im Anhang nachgestellt wird, um den Textfluss bezüglich der Kultur der Stevia rebaudiana nicht zu unterbrechen (s. Anhang zu 2.2.2.3, S.140).

Materialien: Distelstecher, Holzmetermaß, Gießkanne, 20 Pflanztöpfe (∅ = 11 – 13 cm), Gartenerde, 100 Stevia-Jungpflanzen (Höhe ca. 3,5 cm)

Aufbau und Durchführung:

(1) Um für jedes der Beete sowie für die Kultur im Topf möglichst gleiche Anfangsbedingungen für die einzelnen Pflanzen zu gewährleisten, werden die Stevia rebaudiana der Größe nach sortiert. So ergibt sich für die 16 Pflanzen eines jeden Beetes eine Auswahl an zu den anderen Beeten annähernd identischen Stauden. Ebenso werden die restlichen 20 Jungpflanzen auf die vorbereiteten Töpfe verteilt (s. Abb 15).

(2) Nach einer gleichmäßigen Einteilung der Beete finden die Pflanzen im Abstand von 30 cm zueinander ihren Platz. Die Wurzelballen werden in eine vorbereitete Mulde gelegt und anschließend das Erdreich seitlich mäßig angedrückt.

Abb 15 Verteilung der Stevia-Pflanzen auf fünf Beete und 20 Töpfe

(3) Am Ende der Beete wird für jeweils vier Töpfe etwas Erde entnommen und zur Einpflanzung von 20 Stevia rebaudiana verwendet. Der mit unterschiedlichen Düngern versetze Humus wird um die Wurzelballen der Stauden leicht angedrückt. Entsprechend der beigefügten Düngemittel werden jeweils vier Töpfe an das untere Ende der Beete gestellt.

(4) Schließlich sollen die Stevia-Pflanzen möglichst schnell in ihrer neuen Anpflanzung einwachsen. Zu diesem Zweck werden sie gut gewässert, wodurch ein Abwelken verhindert werden kann.

Das Wachstum der Stauden wird durch Messung der Wuchshöhe von drei ausgewählten Pflanzen (groß, mittel, klein) je Dünger im Beet und einer Staude (mittel) im Topf dokumentiert. Die Messung erfolgt alle eineinhalb Wochen. Auf diese Weise werden Informationen über einen Dokumentationszeitraum von Juni bis September zur Bewertung der Eignung der einzelnen Kulturbedingungen (Topf, Beet, Dünger) gesammelt.

Beobachtungen:

beim Einpflanzen

Die Stevia rebaudiana aus den Anzuchtplatten weisen ein kräftiges Wurzelwerk auf.

Wachstum innerhalb drei Monaten

Ein Vergleich der Wachstumskurven der vier Beete legt eine für die verschiedenen Bodenqualitäten ähnliches Längen- und Höhenwachstum offen. Zum Schutz der Stevia rebaudiana müssen die Beete alle zwei bis drei Wochen von Unkraut befreit werden.
Es zeichnet sich vor allem im nicht gedüngten Beet ein rapides Höhenwachstum ab, das jedoch nicht mit dem entsprechenden Zugewinn an Blattmasse verbunden ist. Der Längenzuwachs der Pflanzen in den gedüngten Beeten ist im Grunde bis zu fünf Zentimeter geringer, wohingegen die Pflanzen eine buschige Form mit üppiger Blattmasse ausbilden (s. Abb 16).

Abb 16 Stevia im Beet

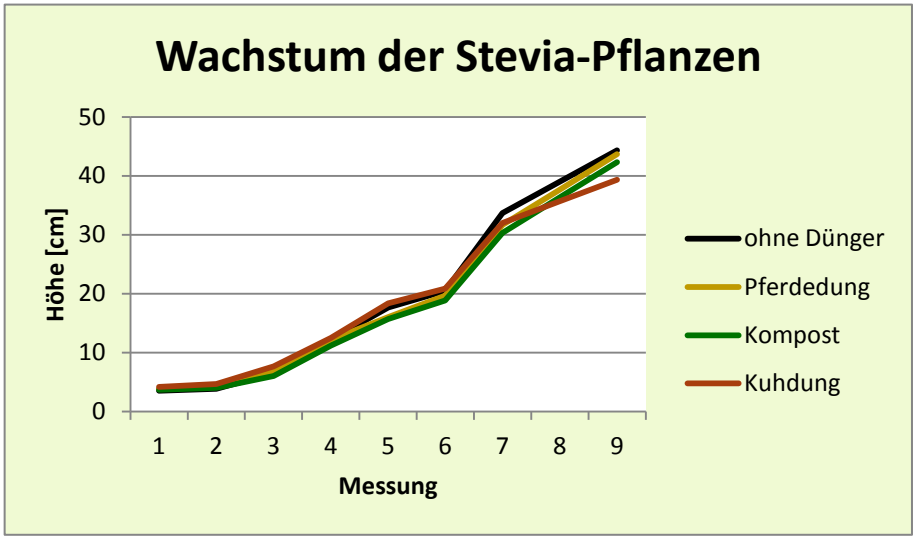


Abb 17 Wachstum bei verschiedenen Düngemitteln

Messung	ohne Dünger	Pferdedung	Kompost	Kuhdung
Triebzahl	13	8	8	8
	1	14	5	3
	4	14	9	9
	2	8	11	6
	5	8	2	8
∅	5	10,4	7	6,8

Tab 2 Triebzahl fünf ausgewählter Stevia (Mitte September)

Zwischen den einzelnen Düngemitteln liegt das Verhältnis von Pflanzenumfang zur Höhe bei rund 1,5, wobei die Düngung mit Pferdemist und Kompost die am besten belaubten und buschigsten Stauden mit maximaler Triebzahl hervorbringt.

Die vergleichende Betrachtung der im Beet gewachsenen Pflanzen mit denen im Freien in Einzeltöpfen kultivierten Stevia rebaudiana zeigt anfangs ein sehr ähnliches Wachstum. Nach vier Wochen verläuft die Entwicklung der Topfpflanzen stark eingeschränkt bezüglich Höhe, Blattmenge und Triebzahl. Nach drei Monaten scheinen sich die Wachstumskurven von Beet und Topf wieder anzunähern (s. Abb 18).

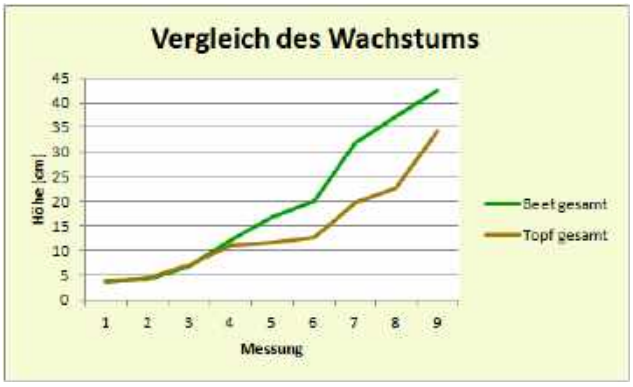


Abb 18 Wachstum im Beet und im Topf

Die Wurzeln der Stevia reichen zu diesem Zeitpunkt durch den Gefäßboden hinaus.

vor der Blatternte im September

Ende August bilden sich an einer Pflanze (im Kompost-Beet) erste kleine, weiße Blüten aus. In der Folge kann eine ähnliche Entwicklung auch in anderen Beeten beobachtet werden.

Der Trieb von Blüten deutet auf den Höhepunkt des Pflanzenwachstums hin. In der Folge kann mit der Ernte eines Großteils der Stevia-Blätter begonnen werden.

Abb 19 erste Blüte der Stevia im Beet

Auswertung:

Die Freilandkultur gelingt aufgrund warmer sommerlicher Temperaturen und einer milden Witterung zwischen Juni und August. Die Photosynthese wird durch zahlreiche Sonnentage (vor allem Mitte und Ende August) und zusätzliche Wassergaben an heißen Tagen stark gefördert.

Ohne Düngung ist eine Stevia-Kultur auf Braunerde möglich, da die paraguayische Pflanze in ihrer Heimat ebenso auf kargen Böden gedeiht und somit anpassungsfähig ist. Durch im Verhältnis wenige Nährstoffe werden aber auch nur wenige Blätter gebildet. Eine Beeinflussung durch eine im ungedüngten Beet gewachsene Sonnenblume und Nikante, welche einen Teil der vorhandenen Nährstoffe aufnehmen, ist sicherlich in begrenztem Maß vorhanden, für die qualitative Beurteilung des Pflanzenwachstums jedoch kaum ausschlaggebend.

In den gedüngten Beeten ist mehr Phosphat und Stickstoff (Nitrat) vorhanden, was das Wachstum deutlich positiv beeinflusst und zur Bildung von niedrigeren Stauden mit mehr Blättern führt. Die schönsten Stauden gehen aus der Düngung mit Pferdemist hervor. Dies lässt sich mit einem optimalen Verhältnis von Kalium, Phosphat und Nitrat erklären, welches nahe bei der Empfehlung von K:P:N = 45:30:60 kg je Hektar Anbaugebiet liegen muss.

Abb 20 Stevia im Beet; links: ohne Düngung, rechts: mit Pferdemist gedüngt

Dass die Pflanzen im Topf kleiner und schmäler sind als die Beetpflanzen, hat im Wesentlichen zwei Ursachen. Da sich das Wachstum des Honigkrauts in den Töpfen anfangs kaum von den in die Erde gepflanzten Stauden unterscheidet (Woche 1 bis 4), scheint ein Mangel an Nährstoffen im weiteren Verlauf der Beobachtung (Woche 5 bis 8) durch die begrenzte Erde in den Pflanzgefäßen für das geminderte Wachstum ausschlaggebend zu sein. Dies wird durch die bessere Entwicklung ab dem Durchdringen des Topfbodens mit den Wurzeln und einer damit verbundenen umfassenderen Nährstoffversorgung bestätigt. Ein weiterer Grund für die Unterentwicklung der Stevia im Topf kann das schnelle Austrocknen bei höheren Tagestemperaturen sein. Während in den Beeten auch bei oberflächlicher Verdunstung in der darunterliegenden Erde Wasser gespeichert wird, heizen sich die Pflanzgefäße durch die Sonneneinstrahlung zügig auf. Als Konsequenz verdunstet das in der Erde enthaltene Wasser, sodass das Wachstum bis zur nächsten Bewässerung weitgehend unterbrochen wird. Die beiden genannten Faktoren summieren sich zu einer beschränkteren Vegetationsperiode für die Honigkraut-Stauden im Topf.

Abb 21 Stevia im Freiland-Topf

Durch kürzer werdende Tage im September wird die Blüte der Stevia rebaudiana induziert. Dies ist des Weiteren ein Signal bezüglich des Süßstoffgehalts in den Blättern, welcher kurz vor der Blüte am höchsten ist. Ab der Blütezeit werde die Produktion der süßen Inhaltsstoffe von der Pflanze heruntergefahren. Folglich können die Stevia-Pflanzen für die Gewinnung des Süßstoffs geerntet werden.

Die Ergebnisse der Praxis zum Stevia-Anbau und zur Kultur lassen sich auf wenige Worte konkretisieren: Stevia rebaudiana (Bertoni) ist anpassungsfähig und kann bei niederbayerischem Klima im Freiland kultiviert werden. Das unter den getesteten beste, natürliche Düngemittel Pferdemist führt zu ertragreichen Pflanzen.

Abb 22 Großflächiger Anbau auch in Deutschland? Australien gibt ein Beispiel

Die Kultur auf rund 18 Quadratmetern könnte auf Grundlage dieser Erkenntnis auf eine größere Fläche ausgeweitet werden. Es ist anzunehmen, dass Stevia auch auf Feldern im süddeutschen Raum gedeiht. Durch engere Bepflanzung der Felder, welche zugleich vor Wasserverlust durch Verdunstung schützt, ließen sich analog zum Stevia-Beet mit fünf Pflanzen pro Quadratmeter Felder mit mehr als 50.000 bis 60.000 Pflanzen pro Hektar schaffen.

Da für diesen Zweck der Anbau von Stevia-Pflanzen in Treibhäusern und die anschließende Auspflanzung äußerst aufwendig ist, muss der Bedarf an tausenden Stevia-Stauden durch verschiedene Vermehrungsmethoden (neben dem Anbau) gedeckt werden.

2.3 Vermehrung von Stevia rebaudiana

Die eher raren Wildbestände der Stevia rebaudiana in Paraguay und Brasilien halten sich durch geschlechtliche Vermehrung am Leben. Durch Befruchtung der Blüten und Samenbildung entstehen Variationen an Stevia-Pflanzen, welche erhebliche Unterschiede im Gehalt der Süßstoffe aufweisen. Für die gewerbliche Nutzung bedeuten Schwankungen der Zusammensetzung und Menge der süßen Inhaltsstoffe einen Nachteil, welcher auf stark variable Extraktionsmengen zurückzuführen ist. Zudem ist, wie selbst beobachtet, die Anzucht des Honigkrauts aus Samen aufwendig und kann nur für die private Nutzung bei wenigen Pflanzen als sinnvoll erachtet werden. Die moderne Vermehrung gelingt deshalb überwiegend über vegetative Verfahren (nach Lit1, S.87; Int13)

2.3.1 Mögliche Methoden der Vermehrung

Stevia ungeschlechtlich zu vermehren ist eine von der Natur nicht vorgesehene Art aus einer einzelnen Staude mehrere, an der Zusammensetzung und Menge der Süßstoffe gleiche Jungpflanzen zu erhalten. Unterschieden werden Markottagen, Stecklinge und die Meristemvermehrung. Was im einfachen Sprachgebrauch als „Ablegen“ von Pflanzen bezeichnet wird, trifft auf das Markottieren und die Vermehrung über Stecklinge gleichermaßen zu. (nach Lit1, S.87).

Abb 23 Stevia-Stecklinge

Stecklinge werden am besten im späten Frühjahr von bereits vorhandenen Pflanzen geschnitten, können jedoch auch ganzjährig angezogen werden. Je nach Klima beginnt die kommerzielle Stecklingsvermehrung schon, wie im subtropischen Israel im Dezember, im Winter. In den Mittelbreiten sollte sie vor den Herbstmonaten erfolgen, da ab dann die Wurzelbildung durch das Klima zunehmend erschwert wird. Von einer gesunden Mutterpflanze werden zunächst frische, nicht verholzte Triebe von 20 bis 30 Zentimeter Länge mittels eines scharfen Messers abgetrennt. Je Trieb lassen sich drei bis fünf Stecklinge mit mindestens zwei Blattpaaren vorbereiten. Die Ableger benötigen ein feines Anzuchtsubstrat, wozu Anzuchterde, Blumensteckmasse, mittelfeiner Quarzsand oder Tonmaterial geeignet sind. Bei Temperaturen um 25-28°C, ausreichender Luftfeuchtigkeit und Belichtung entwickeln sich innerhalb der beiden folgenden Wochen Jungpflanzen aus den Stecklingen. Die Beschleunigung der Bewurzelung kann durch Wachstumsregulatoren (z.B. Indolyl-3-buttersäure) erfolgen. Als Indiz für die erfolgreiche Vermehrung gilt ein hellgrüner Austrieb der Stecklinge an Triebspitzen und/oder Blattachseln. Durch die Verringerung der Luftfeuchtigkeit werden die Pflanzen abgehärtet und können in Einzeltöpfe pikiert werden.

Soll die Auspflanzung der Stecklinge von der Mutterpflanze direkt in ein Beet oder Feld erfolgen, muss in Europa der letzte (Nacht-)Frost abgewartet werden. Erfolg versprechend ist daher die Vermehrung erst ab Juni. Damit die Anzucht gelingt, sollen die Stecklinge mit ca. 15 Zentimetern etwa doppelt so lang wie in der vorigen Beschreibung sein. Die verbleibende(n) Mutterpflanze(n) wird durch den Rückschnitt zur Bildung neuer Triebe angeregt (nach Lit1, S.91-96).

Wer während der Vermehrung seine Stevia-Pflanze ganzheitlich erhalten möchte, sollte den Stecklingen die Markottage vorziehen. Die Bildung von Jungpflanzen erfolgt direkt an einer größeren Staude, sodass die Mutterpflanze bis zur Verpflanzung von Tochterstauden nicht zurückgeschnitten werden muss. Je nach Alter und Größe wird zwischen drei Vorgehen beim Markottieren (=Abmoosen) differenziert. Bei einjährigen Pflanzen kann von bereits vorhandenen Trieben profitiert werden. Das untere, entlaubte Triebende kann mit einem scharfen Messer angeschnitten werden. Ein in die Schnittstelle eingebrachtes Stück Plastik verhindert dem Verschluss der Wunde, während die Ummantelung mit Sphagnum-Moos oder nassem Torf und Folie gegen Austrocknen und für die Wurzelbildung sorgt. Nach erfolgreicher Bewurzelung wird der Trieb von der Mutterpflanze getrennt und kann ausgepflanzt werden. Eine pflanzenschonendere Alternative bietet die Oberseitenförderung. Ein mit Draht waagrecht am Boden fixierter Trieb entwickelt aus den Blattachseln senkrechte Trieblinge nach oben. Sobald diese eine Höhe von zehn Zentimeter erreicht haben, werden die Blattachseln mit feuchtem Substrat bedeckt. Nach einigen Wochen können die bewurzelten Trieblinge als Einzelpflanzen weiterkultiviert werden (nach Lit1, S.96-98).

Abb 24 Abmoosen (Markottieren) an Stevia rebaudiana

Als dritte Möglichkeit lassen sich durch die Bedeckung frischer Triebe mit Anzuchterde und regelmäßiger Befeuchtung aus überwinterten Stauden leicht Jungpflanzen ziehen. Haben die Trieblinge eine Höhe von 20 Zentimeter erreicht, wird die Erde mit einem feinen Wasserstrahl abgespült. Die bewurzelten Stängel werden als eigenständige Pflanzen vom Wurzelballen der überwinterten Mutterpflanze abgetrennt (nach Lit1, S.98).

Zwar ermöglichen diese ungeschlechtlichen Methoden der Vermehrung die eine schnellere und effektivere Anzucht von Jungpflanzen als durch den Samenanbau, die moderne Vervielfältigung selektierter Stevia rebaudiana erfolgt jedoch zunehmend von der ursprünglichen Staude getrennt. In-vitro-Kultur ist hierbei das Schlagwort, bei der aus Pflanzenteilen ganze Stauden in erstaunlich kurzer Zeit hervorgehen. Mit Natriumperchlorat und Alkohol von Keimen befreite Sprosse werden nach der Spülung mit sterilem Wasser in ein Nährmedium mit Agar-Boden gegeben. Gehen aus den

Sprossen Trieblinge hervor, werden diese zerkleinert und erneut in ein flüssiges Nährmedium gegeben. Unter idealen Bedingungen entstehen mit dieser kostengünstigen und an Schnelligkeit nicht zu überbietenden Vermehrungsmethoden fertige Honigkraut-Pflanzen innerhalb der drei Folgewochen (nach Lit1, S.98f.).

Wirtschaftlich stellt die Meristemvermehrung das größte Potenzial dar. Für den Eigenbedarf sind Markottierung und Stecklingsvermehrung vorzuziehen, da keine besonderen Hilfsmittel für das „Ablegen“ benötigt werden.

Abb 25 In-vitro-Kultur von Stevia

Die Umsetzbarkeit der Stecklingsvermehrung und der Markottage werden mit Hilfe der selbst gezogenen, einjährigen Pflanzen überprüft. Das Stevia-Beet könnte sich durch den Zugewinn an Jungpflanzen zum Stevia-Feld ausbauen lassen.

2.3.2 Anwendung der Stecklingsvermehrung

Zur Durchführung der Vermehrung essentielle Schritte sind bereits in Form des Stevia-Anbaus durchgeführt worden. Aus der Gewächshauskultur der Stevia rebaudiana lassen sich mehrere Pflanzen für den Schnitt von Stecklingen und das Markottieren verwenden. Damit das Gelingen nicht von unterschiedlichen Witterungen beeinflusst wird, werden die beiden Versuche parallel durchgeführt.

Analog zur theoretischen Auseinandersetzung mit dem Thema Vermehrung von Stevia rebaudiana wird mit der Erläuterung der Stecklingsvermehrung in der Praxis begonnen. Diese wird Ende Mai 2012 durchgeführt und dokumentiert.

Materialien: Pflanzschale, Anzuchterde, Skalpell, Frischhaltefolie, Gießkanne, Stevia-Pflanzen

Aufbau und Durchführung:

(1) Für die Vermehrung der Stevia rebaudiana mit Stecklingen wird ein Pflanzgefäß mit Anzuchterde gefüllt und die Oberfläche geebnet.

(2) Von den angezogenen, bereits großen Stevia-Pflanzen im Gewächshaus werden ca. 7-10 cm lange Triebe mit einem Skalpell abgetrennt (s. Abb 26).

Abb 26 Schnitt von Stecklingen

(3) Die Triebe werden gekürzt und dabei der Stängel dicht unter dem letzten Blattpaar schräg abgeschnitten. Die Schrägung der Schnittstelle soll das Anwurzeln erleichtern. Das unterste Blattpaar wird sorgfältig entfernt. Die so erhaltenen 5-7 cm langen Ableger werden etwa 2-3 cm tief in die Anzuchterde gesteckt und vorsichtig angedrückt.

(4) Die Stecklinge werden gegossen und mit einer Frischhaltefolie abgedeckt. So soll ein warmes Milieu mit hoher Luftfeuchtigkeit garantiert werden. Die Folie schütz die Triebe vor dem Austrocknen.

Die abgedeckte Pflanzschale wird ins Gewächshaus gestellt und regelmäßig beobachtet. Gemäß der Versprechung „[w]erden Stecklinge zur rechten Zeit geschnitten, [sei] die Bewurzelungsquote hoch“ (Lit1, S.93) wird mit einem raschen Austrieb der Ableger gerechnet. Die Beobachtungen bestätigen diese Vermutung.

Beobachtungen und Auswertung:

nach rund zwei Wochen

Abb 27 Stecklinge in Steckschale

Etwa 11 Tage nach dem Stecken der Ableger kann ein junger, hellgrüner Austrieb der Stevia-Stecklinge beobachtet werden, der auf den Beginn der Wurzelbildung hindeutet. Durch die Wurzeln können die Pflanzen Wasser und Nährstoffe aufnehmen in Zusammenhang mit der Photosynthese neue Blätter treiben.

nach einem Monat

Es bilden sich bei elf der zwölf Stecklinge neue Blätter aus den Triebspitzen und Blattachseln, sodass eine ausreichende Bewurzelung der Pflanzen vorliegen muss. Die Stecklinge werden aus der Steckschale entnommen und in Einzeltöpfe gepflanzt.

Abb 28 Verpflanzung der angewurzelten Stecklinge

Ab diesem Zeitpunkt wachsen die Jungpflanzen kräftig und bestätigen damit die Annahme, diese Vermehrung sei einfach durchzuführen. Im Vergleich zum Anbau der Stevia rebaudiana verläuft die Stecklingsvermehrung schnell und unkompliziert. Binnen weniger Wochen können aus einer einzigen Süßblatt-Staude mehrere Jungpflanzen hervorgehen, welche die gleichen Eigenschaften wie die Mutterpflanze aufweisen.

Ein möglicher Nachteil kann sich dadurch ergeben, dass schon vor der Wurzelbildung Triebe von der Mutterpflanze entfernt werden müssen. Beim Markottieren werden die abzulegenden Pflanzenteile zunächst noch durch die Stammpflanze mit Nährstoffen und Wasser versorgt. In der Praxis wird eine der drei Formen des Markottierens zur Vermehrung angewendet.

2.3.3 Anwendung des Markottierens

Materialien: Skalpell, Plastikplättchen, Frischhaltefolie, Klebeband, Torf, Stevia-Pflanze

Aufbau und Durchführung:

Abb 29 Aufbau beim Markottieren

(1) Zu Beginn werden Blätter an ausgewählten, frischen Trieben der Mutterpflanze auf einer Länge von ca. 4-5 cm vorsichtig entfernt.

(2) Mit einem Skalpell wird der Triebstiel unterhalb der Stelle eines entfernten Blattpaares zur Hälfte an- aber nicht durchgeschnitten. In die Schnittstelle wird ein kleines Kunststoffplättchen (ca. 0,5 cm x 0,5 cm) geklemmt, welches ein Verschließen der Triebverletzung verhindern soll.

(3) Die Schnittstelle wird mit feuchtem Torf umgeben. Die Umwicklung mit Frischhaltefolie soll den Einschnitt feucht halten. Zur Fixierung wird die Folie mit einem Klebeband verschlossen.

An einer ausgewählten Stevia rebaudiana sind vier Triebe entsprechend präpariert worden. Die Pflanze wird im Anschluss ins Gewächshaus gestellt, um die Wurzelbildung an den Schnittpunkten bei einer warmen Umgebungstemperatur zu fördern.

Beobachtungen und Auswertung:

nach drei Wochen

Der Beschlag der Folienummantelung durch Kondenswasser verhindert, dass die Wurzelbildung direkt beobachtet werden kann. Deshalb werden zwei der Folienummantelungen geöffnet. Die Schnittstelle des ersten Triebes ist aufgrund des umhüllenden, zu feuchten Torfs gefault. Beim zweiten ist ebenso keine Wurzelbildung

erkennbar, was daran liegen mag, dass das Plastikstückchen in der Schnittspalte herausgerutscht und die Verletzung des Stängels von der Pflanze verschlossen worden ist.

Diese Beobachtung wiederholt sich ebenso beim Entfernen der Folie vom dritten präparierten Trieb.

Da der vierte Trieb der Pflanze keine Anzeichen für Welke aufweist, wird die Folie um die Schnittstelle in der Folge noch nicht entfernt. Damit die Staude nicht zu stark in die Länge wächst, wird sie an einen windgeschützten Platz im Freien gestellt.

Abb 30 Trieb ohne Wurzelbildung

nach drei Monaten

Anfang Oktober wird vor dem Ende der Vegetationszeit die Folie um den vierten Trieb entfernt. Die Schnittstelle weist wenige, kräftige Wurzeln im feuchten Torf auf. Daraus lässt sich rückschließen, dass das Ausbleiben der Wurzeln bei den anderen Stängeln möglicherweise deshalb eingetreten ist, weil die Folien zu früh geöffnet worden sind.

Der Trieb wird unterhalb der Bewurzelung abgetrennt, in einen Topf mit Blumenerde eingepflanzt und angegossen.

Abb 31 erfolgreiches Markottieren

Vergleicht man die beiden durchgeführten Vermehrungsmethoden von Stevia rebaudiana, so lässt sich doch ein eindeutiges Ergebnis feststellen. Die Stecklingsvermehrung erscheint für die Vervielfachung des Stevia-Bestandes zumindest für den Eigenbedarf ein schnelles und zuverlässiges Verfahren zu sein. Dies zeigt sich auch bei der Wiederholung des beschriebenen Versuchs im August. Das Abmoosen ist möglich, jedoch aufwendiger hinsichtlich der Durchführung (Umwicklung der Schnittstellen mit Torf und Folie), was eine Mechanisierung schwierig gestaltet. Die maschinelle Vermehrung von Stevien über Steckling dürfte sich dagegen realisieren lassen.

Nachdem ein beträchtlicher Bestand an Stevia rebaudiana für die private Nutzung mittels Anbau und Stecklingen selbst gezogen werden konnte (rund 150-180 Pflanzen), ist es notwendig die Ernte und Aufbewahrungsmöglichkeiten für erhaltene Blätter ins Auge zu fassen.

2.4 Stevia-Süße über Jahre?

Während der Sommermonate sind frische Blätter zum Süßen von Lebensmitteln oder zur Gewinnung der Süße kontinuierlich verfügbar. Soll dies auch während den Wintermonaten so sein, gibt es zwei Möglichkeiten. Zum einen können die Blätter der Stevia rebaudiana von den Pflanzen geerntet werden und auf verschiedene Weise aufbewahrt werden. Alternativ lassen sich die mehrjährigen Pflanzen selbst weiter kultivieren. Dies gelingt zwar aufgrund der mangelnden Frostbeständigkeit der Pflanzen in Deutschland nicht im Freien. Bei geeigneten, künstlich geschaffenen Bedingungen ist trotzdem eine ganzjährige Ernte möglich. Wie diese in Theorie und Praxis abläuft, wird im Folgenden dargelegt.

2.4.1 Ernte und Aufbewahrung von Stevia-Blättern

Die Verfahren zur Konservierung der Blätter des Süßkrauts sind keineswegs neu und lehnen sich an die Ernte und Aufbewahrung von Kräutern oder Tee-Pflanzen wie Pfefferminz an.

2.4.1.1 Theoretische Grundlagen der Ernte und Konservierung

Als Erntezeitpunkt empfiehlt es sich, den Zeitraum kurz vor der Blüte zu wählen, da hier die in den Blättern produzierten und gespeicherten Süßstoffe maximal vorhanden sind. In Europa entspricht dies den Septemberwochen, obschon ein ganzjähriges Abpflücken der Triebspitzen ein buschiges Wachstum der Pflanzen fördern kann. Mit der ersten vollständigen Ernte der Blätter sollte auf jeden Fall gewartet werden, bis der erste kräftige Austrieb der Pflanzen stattgefunden hat, da die Photosyntheseleistung der Staude sonst nachhaltig beeinträchtigt wird. Die Blätter selbst lassen sich leicht gegen die Wuchsrichtung der Pflanze abstreifen. Soll das Wachstum nicht unterbrochen werden, können auch nur die Blätter, jedoch nicht die Triebspitzen, gepflückt werden. Geerntete Blätter sollten von anhaftendem Staub oder Erde durch kurzes Waschen gereinigt werden. Zur weiteren Verwendung lassen sich mehrere Möglichkeiten aufzählen (nach Lit1, S.79-81/S.102; Int5, Int14).

Darunter ist die Trocknung des Honigkrauts zunächst die einfachste Form der Aufbewahrung, wenn die Blätter erst später verarbeitet werden sollen. Der Feuchtigkeitsentzug kann sowohl mit Hilfe von Sonnenwärme und Wind an der Luft als auch in einem Sieb auf dem Heizkörper, im Backofen um 80°C oder in der Mikrowelle für ca. 30 Sekunden erfolgen. Letztere beide Möglichkeiten sind aber eher für geringe Blattmengen geeignet. Die getrockneten Blätter lassen sich zwar verschiedenen Tees beifügen, zur Zubereitung von Lebensmitteln sind sie jedoch wohl noch ungeeignet. Deshalb ist es häufig sinnvoll, aus dem wasserfreien Süßkraut in einer Reibschale ein Pulver herzustellen, welches sich in luftdicht verschlossenen Gläsern über den Winter hinweg aufbewahren lässt (nach Lit1, S.79-81/S.103-105).

2.4.1.2 Umsetzung der Konservierungsmethoden

„Frisch geerntete Blätter können auch einige Tage im Kühlschrank gelagert werden“ (Lit1, S.103). In diesem Zusammenhang interessiert auch, inwiefern eine Aufbewahrung im Tiefkühlschrank geeignet ist. Zusammen mit den zuvor beschriebenen Aufbewahrungsmethoden kann diese Frage praktisch untersucht werden.

Abb 32 Ernte von Blättern

Materialien: Schüssel, Nudelsieb, Trocknungssieb, Betonsteine, Backblech, Keramik-Teller, Karton, Küchenpapier, Metalldose, Gefrierbeutel, Gummiband, Stevia-Pflanzen

Aufbau, Durchführung und Beobachtung:

(1) Von den Trieben der Stevia-Stauden werden die größten Blätter einzeln gegen die Wuchsrichtung abgepflückt und die Triebspitzen beibehalten, damit die Pflanze weiterwachsen und neue Blätter ansetzen können (s. Abb 32).

(2) Die in einer Schüssel gesammelte Blätter werden im Nudelsieb gewaschen und kurz abtropfen gelassen. Dann werden sie auf die verschiedenen zu untersuchenden Aufbewahrungsverfahren aufgeteilt.

(3a) Ein Teil der Blätter wird in einem mit Küchenpapier ausgekleideten Pappkarton gegeben und locker darin ausgebreitet. Bei Zimmertemperatur und Bestrahlung durch die Sonne sind die Blätter innerhalb von ein bis zwei Wochen trocken und können in eine Metalldose für Gebäck gefüllt und unter Luftverschluss aufbewahrt werden.

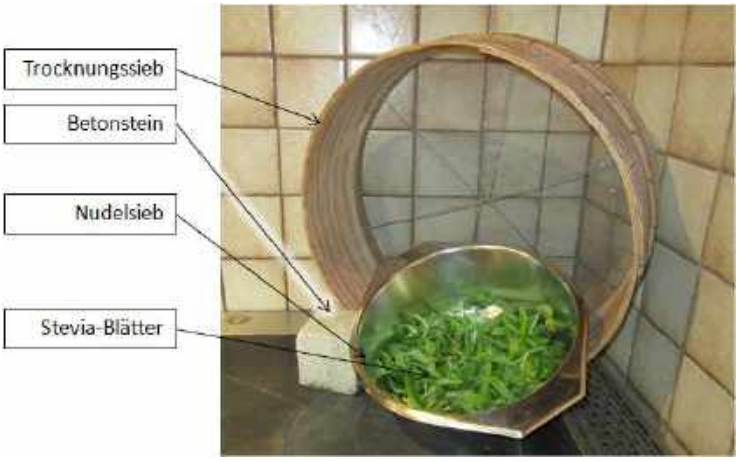


Abb 33 Aufbau zur Trocknung der Blätter im Trocknungssieb

Eine Trocknung innerhalb von zwei bis vier Tagen kann erzielt werden, wenn die geernteten Blätter in einem Trocknungssieb über der Platte eines Holzofens gelagert werden.

(3b) Eine Handvoll frischer, gewaschener Blätter wird auf einen Kuchenteller gegeben und für knapp eine Minute in die Mikrowelle gestellt. Nach 30 Sekunden tritt ein charakteristischer Geruch der Stevia-Blätter aus der Mikrowelle (s. Abb 34). Die wasserfreien Blätter werden entnommen und können in einer Metallschachtel aufbewahrt werden.

Abb 34 Aufbau zur Trocknung in der Mikrowelle

Abb 35 Stevia-Blätter frisch (links) und getrocknet (rechts)

(3c) Die nach dem Waschen abgetropften Blätter werden in mit Datum beschriftete Gefrierbeutel gefüllt und zusammengedrückt. Die Beutel werden mit einem Gummiband fest verschlossen und in den Tiefkühlschrank bei ca. -20°C gelegt.

Abb 36 Aufbau zur Tiefkühlung frischer Blätter

Auswertung:

Die Trocknung der Blätter erfolgt durch die Verdunstung von Wasser aus den Blättern. Zurück bleiben Feststoffe und pflanzliche Öle, welche nicht verdampfen. Je größer die Wärmezufuhr ist, desto schneller trocknen die Blätter. Während bei dem kontinuierlichen Wasserentzug über zwei Wochen bei der Lufttrocknung durch die Zimmertemperatur und Sonnenlicht eher wenig Wärme für die Wasserverdunstung zur Verfügung steht, wird den Blättern durch die Wärmestrahlung der Mikrowelle viel Verdampfungsenergie zugeführt. Die Blätter sind deshalb schneller trocken.

Im Gegensatz dazu besteht die Konservierung beim Tiefkühlen darin, dass das in den Blättern vorhandene Wasser gefriert. Die Blätter „kleben“ in einem Block zusammen, da das durch die Reinigung der Blätter anhaftende Wasser zwischen den Blättern zu einem regelmäßigen Feststoff gefroren ist.

Abb 37 Stevia-Blätter vor (links) und nach (rechts) dem Tiefkühlen

Sowohl die durchgeführte Trocknung der Blätter an der Luft, in einem Trocknungssieb und in der Mikrowelle als auch die Tiefkühlung des frischen Honigkrauts scheinen für die Konservierung der Blätter geeignet. So kann die Stevia-Süße theoretisch auch dann verwendet werden, wenn frische Blätter nicht zur Verfügung stehen. Durch die Überwinterung der angebauten und vermehrten Pflanzen müsste sich jedoch die Notwendigkeit der Konservierung umgehen lassen.

2.4.2 Überwinterung von Stevia-Pflanzen

Da die südamerikanische Stevia rebaudiana in ihrer Heimat für gewöhnlich keinen Temperaturen unter 0°C ausgesetzt wird, muss sie während der Wintermonate nicht vor Kälte geschützt werden. Bereits einmalige Temperaturen unterhalb des Gefrierpunkts lassen die Pflanze zumindest oberflächlich absterben.

In mäßig kalten Regionen können die Süßkraut-Stauden im Freien überwintert werden. Die mehrjährigen Pflanzen werden vor dem ersten Frost im Herbst zurückgeschnitten (die Blätter können zuvor geerntet werden) und mit einer Mulchschicht aus Stroh, Nadelholzzweigen oder Laub abgedeckt. Der 20 bis 30 Zentimeter dicke Mulch isoliert die Pflanze von raschen Temperaturschwankungen bei Sonneneinstrahlung und somit auch vor dem besonders schädlichen Auftauen gefrorener Zweige tagsüber und anschließendem Einfrieren während der Nacht (nach Lit1, S.75).

Sind die Winter zu kalt für die Überwinterung im Freien, bieten sich mehrere Möglichkeiten die Stevia im geschlossenen Raum bei Temperaturen über zwei Grad Celsius über den Winter zu kultivieren. Zum einen kann die Pflanze kühl (z.B. im Keller) mittels eines Rückschnitts auf eine Höhe von fünf Zentimeter überwintert werden. Besteht der Wunsch, auch im Dezember oder Januar frische Blätter zu ernten, bieten ein sonniger Wintergarten, ein Gewächshaus oder die Fensterbank eine Alternative. Zwar sind die Pflanzen im Winter durch Lichtmangel geschwächt und somit empfänglicher für Schadinsekten und Pilze, allerdings kann durch einen Rückschnitt und künstliche Belichtung eine ganzjährige Dauerkultur erfolgen (nach Lit1, S.75f.; Int14).

Die beschriebenen Möglichkeiten, Stevia bei kalten Wintermonaten mehrjährig zu ziehen, lassen sich auch praktisch umsetzen. Dazu werden Ende September erste Stevia rebaudiana Pflanzen aus der Beetkultur entnommen und in Plastiktöpfe gepflanzt. Bei Bedarf können sie so rasch zum Schutz vor Kälte in wärmere Räume transportiert werden. Eine zweijährige Pflanze lässt sich auf ähnliche Weise über den Winter 2011/2012 in einem warmen Raum kultivieren und zeigt im Frühjahr 2012 wieder einen kräftigen Austrieb des Wurzelballens trotz der oberflächlich abgestorbenen Stängel. Nach dem zweiten Sommer kann über eine kräftige Pflanze mit vom Wurzelstock her leicht verholzten Trieben verfügt werden.

Abb 38 zweijährige Stevia rebaudiana aus eigenem Anbau

Obwohl sich nach den beschriebenen Verfahren (eigene Überwinterung) nachweislich auch in Deutschland mehrjährige Pflanzen ziehen lassen, ist „[i]m Allgemeinen [ ] daraus der Schluss zu ziehen, dass sich unter den derzeitigen Gegebenheiten eine Überwinterung (bzw. ein Überwinterungsversuch) bei uns nicht lohnt“ (Lit1, S.75f.). Für die private Nutzung mag die mehrjährige Kultur des Süßkrauts eine Herausforderung sein, kommerziell lassen sich die aufwendigen Schutzmaßnahmen nicht realisieren.

Um auf die eingangs genannte Frage *„Stevia rebaudiana – eine Pflanze für Europas Mittelbreiten?“* eine Antwort zu finden, müssen bisherige Erkenntnisse zusammengefasst werden.

Deutschland – und im Speziellen Süddeutschland – weist zwar kein feucht-subtropisches Klima auf, jedoch lässt sich die Stevia rebaudiana durch den Anbau im Frühjahr über die Sommermonate zu ertragreichen Pflanzen kultivieren. Am besten eignet sich die Kultur im Freien unter Zugabe von Düngern. Als angepasstes biologisches Düngemittel lässt sich Pferdemist nennen, welcher unter den Humus eingearbeitet wird. Mit Hilfe der Stecklingsvermehrung können aus einer einzelnen Pflanze viele hervorgehen, sodass sich auch eine kommerzielle Kultivierung ermöglichen ließe. Als mögliche Einschränkung ergeben sich kalte Temperaturen während der Wintermonate, welchen die südamerikanischen Stauden nicht angepasst sind. So wird sich in der Folge aus wirtschaftlichen Überlegungen heraus entscheiden, ob eine einjährige, mögliche Kultur des Süßkrauts auf deutschen Agrarflächen lohnend ist.

3 DIE SÜSSE AUS DEM BLATT

In Europa befindet sich die Anpflanzung des paraguayischen Honigkrauts (noch) überwiegend in der Startphase, sodass in der Gegenwart die kommerzielle Produktion der süßen Blätter vornehmlich im afrikanischen, asiatischen und südamerikanischen Ausland stattfindet. Seit der offiziellen Einwilligung der europäischen Kommission zur Nutzung des Lebensmittelzusatzstoffs E 960 in Nahrungsmitteln im vergangenen November 2011, ist der legale Erwerb des Süßstoffs der Stevia rebaudiana möglich. Dieser wird direkt aus frischen oder getrockneten Stevia-Blättern gewonnen. Traditionelle und moderne Verfahren liegen der Extraktion der sogenannten Steviolglycoside zugrunde, welche für den süßen Geschmack des Honigblatts verantwortlich sind.

3.1 Inhaltsstoffe der Stevia-Pflanze

Neben den Steviolglycosiden, die oft fälschlicherweise unter dem Oberbegriff „Steviosid“ zusammengefasst werden, werden kontinuierlich neue Verbindungen in der Pflanze entdeckt. Mit Hilfe der theoretischen Kenntnisse zu Art und Struktur der süßen Bestandteile können Blätter und Extrakte mittels Mikroskop und Dünnschichtchromatographie auf chemische Bestandteile untersucht werden (nach Int15).

3.1.1 Süße und nicht-süße Bestandteile

Den Ausführungen über Art und Synthese der Steviolglycoside in den Blättern der Stevia rebaudiana sowie der Summe weiterer pflanzlicher Stoffe muss vorausgeschickt werden, dass eine umfassende Erläuterung der gesamten Photosyntheseprodukte des Süßkrauts den Rahmen der vorliegenden Seminararbeit sprengen würde. Da unter den mehr als 100 identifizierten Verbindungen eben hauptsächlich die Steviolglycoside für die Verwendung des Süßungsmittels Stevia interessieren, wird auf weitere Stoffe und Stoffgruppen nur marginal eingegangen (nach Int13).

3.1.1.1 Biosynthese von Steviolglycosiden

Die Bestimmung der Struktur der Stevia-Süßstoffe blickt auf mehr als 50 Jahre Forschung zurück. So sind die Diterpenglycoside, welche sich von ent-Kaur-16-en ableiten, neben den Blattfarbstoffen die am besten beschriebene Stoffgruppe in der Stevia rebaudiana. In getrockneten Blättern liegen sie in einem je nach Sorte und Züchtung schwankenden Massenanteil von 4-20% vor. Die dem ent-Kaur-16-en übergeordnete Naturstoffklasse ist die der Terpene. In der Regel werden die Terpenmoleküle durch Einheiten mit fünf Kohlenstoffatomen (Isopren) aufgebaut (s. Abb 39). Es wird je nach Zahl der Kohlenstoffatome in der Verbindung zwischen Monoterpenen (C10), Sesquiterpenen (C15), Diterpenen (C20) usw. unterschieden (nach Lit2, S.124; Lit3, S.55/S.63; Int13).

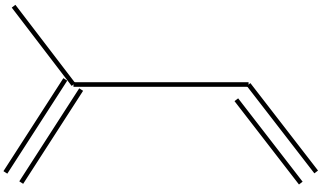


Abb 39 Isopren (2-Methyl-buta-1,3-dien)

Nachdem 1905 erste Forschungsergebnisse zur Struktur der Steviolglycoside gelingen, werden inzwischen zwei mögliche Synthesewege für die süßen Moleküle beschrieben. Neben dem noch wenig erforschten 2-C-Methyl-D-erythriol-4-phosphat-Synthesepfad (ähnlich der Bildung der Gibberilline) wird von der Synthese des Süßstoff-Aglycons Steviol über die Biosyntheseschritte der Bildung von Terpenen ausgegangen. Letzteres Syntheseschema soll ausgehend von aktivierter Essigsäure erläutert werden (nach Int2, Int13).

Als erstes Syntheseprodukt wird (R)-Mevalonsäure gebildet, welche in Gegenwart von ATP phosphoryliert wird (nach Int16, Int17, Int50).

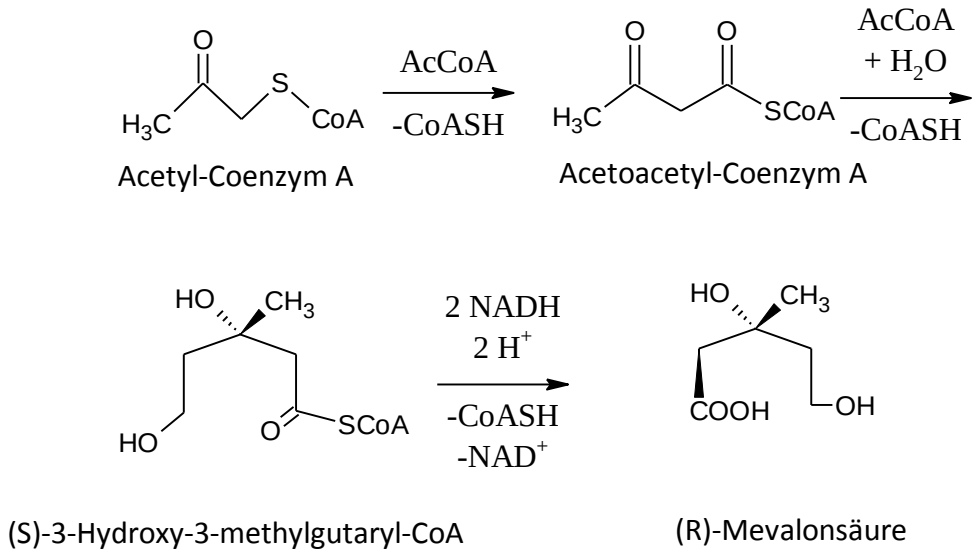


Abb 40 Synthese von Mevalonsäure

Über die Intermediate 5-Phosphomevalonsäure, 5-Pyrophosphomevalonsäure und 3-Phospho-5-pyrophosphomevalonsäure wird die (R)-Mevalonsäure zu den Isomeren Dimethylallylpyrophosphat (DMAPP) und Isopentenylpyrophosphat (IPP) umgebaut. Dies sind direkt essentielle Edukte für die Synthese der Terpene (s. Abb 41) (nach Int16, Int18, Int50).

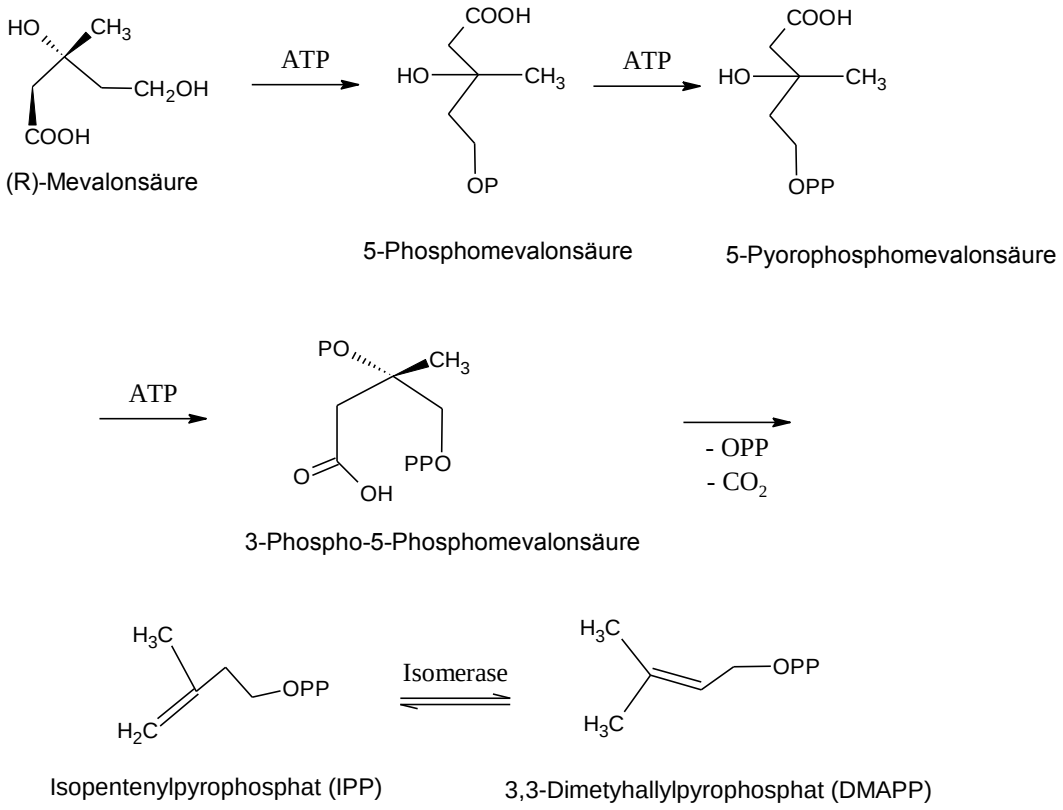


Abb 41 Synthese von IPP und DMAPP
[-OP bzw. -OPP Phosphat- und Pyrophosphatgruppen]

Unter Einwirkung von Enzymen werden DMAPP, und mehrere Moleküle IPP zu Geranylgeranylpyrophosphat (GGPP) verknüpft (s. Abb 42) (nach Int16, Int18).

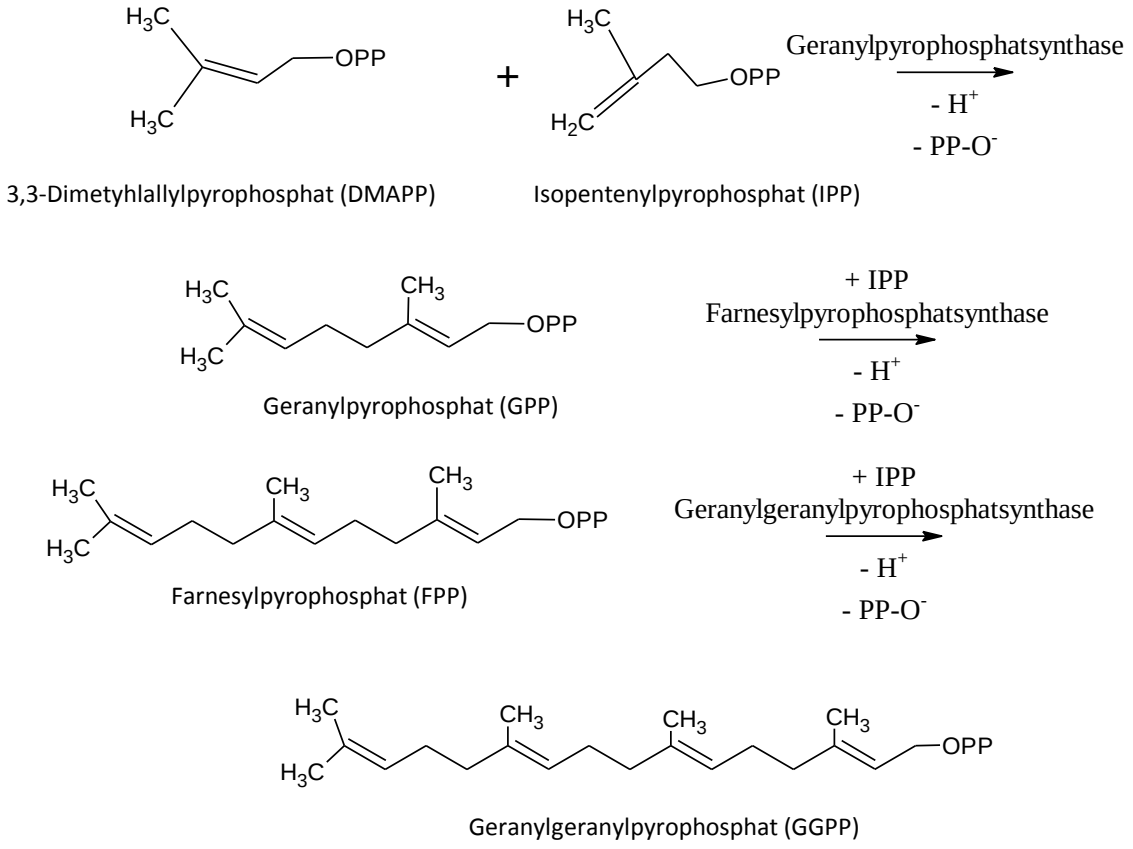


Abb 42 Syntheseschritte zu GGPP

Aus dem Grundgerüst der Diterpene GGPP bildet das entsprechende Enzym ent-Copalylpyrophosphat. Mit der ent-Kauren-Synthase erfolgt die Bildung von ent-Kaur-16-en. Die C-19-Bindung des ent-Kaurens wird enzymatisch oxidiert, sodass über die ent-Kaur-16-en-19-säure unter Anlagerung einer Hydroxygruppe an C-13 das Süßstoff-Aglycon Steviol entsteht. Steviol (= 13-Hydroxy-ent-Kaur-16-en-19-säure) ist der gemeinsame Baustein für alle natürlich vorkommenden Steviolglycoside, die sich nur an den verschiedenen Zuckerreste unterscheiden. Lange Zeit ist man von sechs natürlichen Steviolglycosiden ausgegangen, deren Zahl sich durch neuere (zum Teil noch nicht gesicherte) Forschungen auf 20 erhöht hat (nach Int5, Int13, Int19, Int22).

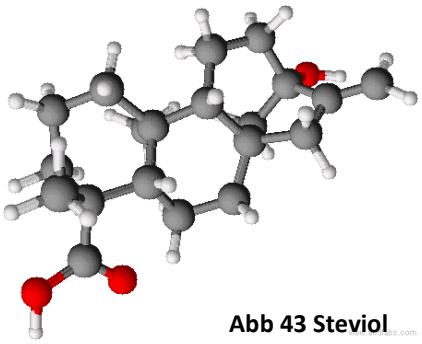


Abb 43 Steviol

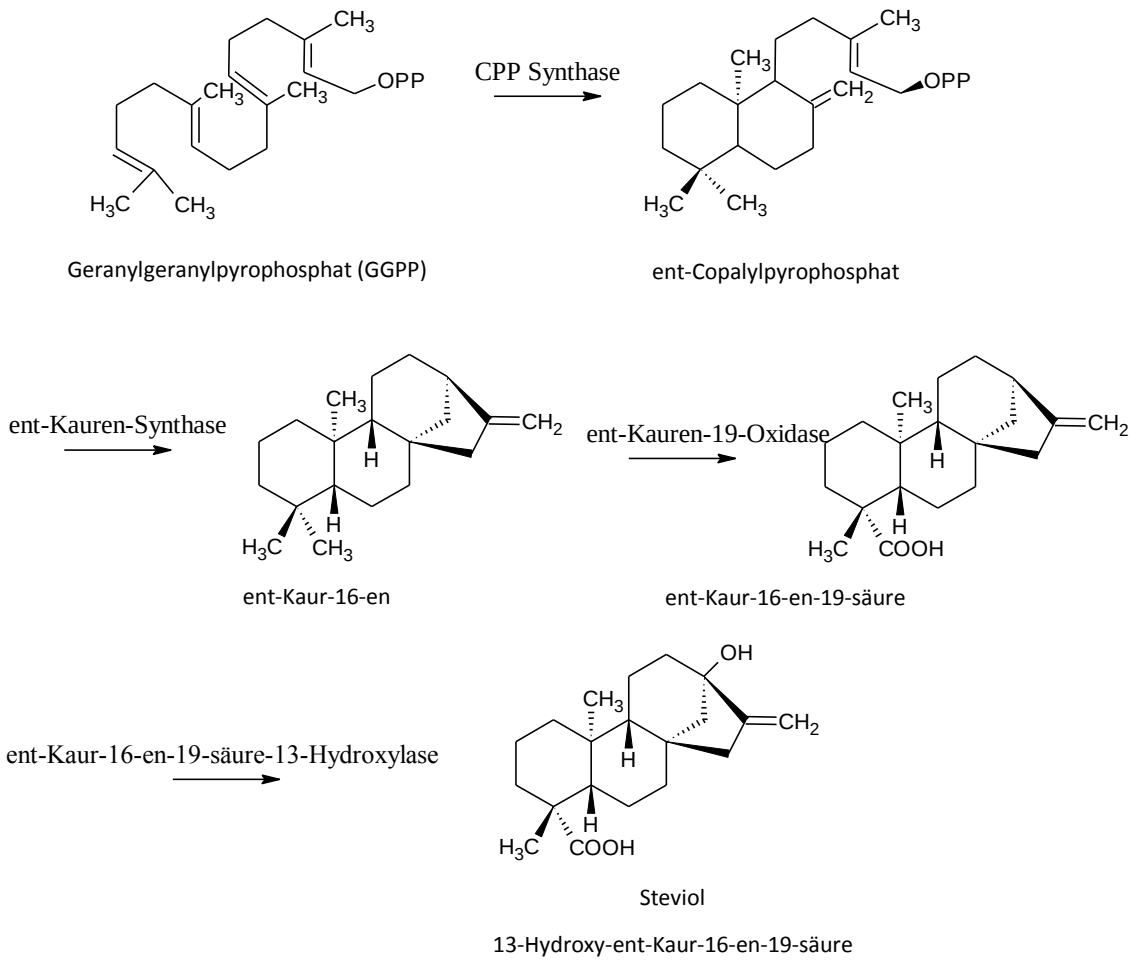


Abb 44 Syntheseablauf von Steviol

Mit Hilfe von Glycosyltransferasen werden die UDP-aktivierten Formen von β-D-Glucose, β-D-Xylose und α-L-Rhamnose (jeweils in Pyranoseform) an Steviol gebunden. Die Saccharide sind mit dem anomeren Kohlenstoffatom am Steviol-Molekül bei C-13 glycosidisch und an C-19 in Form eines Esters angehängt. Die Produkte sind je nach Verknüpfung von Glucose und Rhamnose (und Xylose) mit 13-Hydroxy-ent-Kaur-16-en-19-säure die Steviolglycoside Steviosid, Rebaudiosid A, Rebaudioside C bis F sowie Dulcosid A und Rubusosid. Da es sich bei den Süßstoffen um Photosyntheseprodukte handelt, können sie sowohl in den Blättern als auch in Trieben und Blüten des Süßkrauts nachgewiesen werden. Je nach Sorte der Stevia rebaudiana variieren die Anteile der einzelnen Glycoside (nach Int13, Int20, Int22).

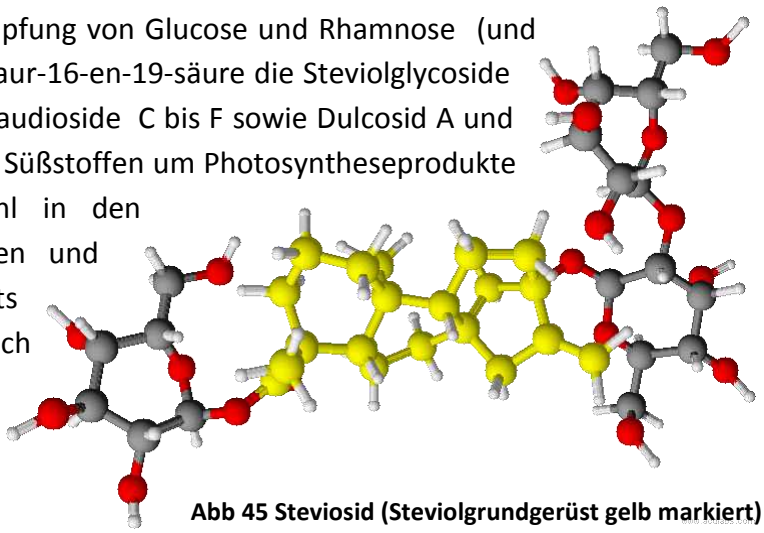


Abb 45 Steviosid (Steviolgrundgerüst gelb markiert)

3.1.1.2 Steviosid, Rebaudiosid A und weitere Steviolglycoside

Die Besonderheit der Stevia rebaudiana (Bertoni) liegt darin, dass sie wohl als einzige ihrer Art genau die sechs bestätigten Süßstoffe bildet, wohingegen in anderen Stevien weniger bedeutende Terpenglycoside synthetisiert werden. Einen Überblick über die verifiziert natürlich vorkommenden Steviolglycoside gibt die folgende Abbildung (nach Lit4, S.4309; Int13).

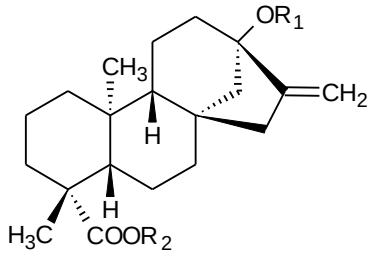


Abb 46 Grundgerüst aller Steviolglycoside

Name	R1	R2
Steviosid	β-D-Glc	β-D-Glc -(2→1)- β-D-Glc
Rebaudiosid A	β-D-Glc	β-D-Glc -(2→1)- β-D-Glc (3→1) β-D-Glc
Rebaudiosid C	β-D-Glc	β-D-Glc -(2→1)- α-L-Rha (3→1) β-D-Glc
Rebaudiosid D	β-D-Glc -(2→1)- β-D-Glc	β-D-Glc -(2→1)- β-D-Glc (3→1) β-D-Glc
Rebaudiosid E	β-D-Glc -(2→1)- β-D-Glc	β-D-Glc -(2→1)- β-D-Glc
Dulcosid A	β-D-Glc	β-D-Glc -(2→1)- α-L-Rha

Abb 47 Überblick über sechs Steviolglycoside

Die sechs Steviolglycoside sind optisch aktiv und aufgrund der Glucose(= Glc)- bzw. Rhamnose(=Rha)-Reste in Wasser und polaren Lösungsmitteln wie Ethanol sehr gut löslich. Neben den in Abbildung 47 aufgeführten Steviolglycosiden sind zu Beginn der Besprechung der süßen Bestandteile von Stevia rebaudiana bereits Rebaudiosid F und Rubusosid erwähnt worden. Rebaudiosid F ist in Pflanzen neuerer Züchtungen entdeckt worden, welche einen hohen Gehalt an Rebaudiosid C aufweisen. Anstelle eines Rhamnose-Moleküls ist bei diesem Steviolglycosid Xylose gebunden. Bislang sei die Herkunft von Rubusosid in der Stevia rebaudiana, welches an beiden Resten des Steviols nur ein β-D-Glucose-Molekül bindet, noch weitestgehend ungewiss. (nach Lit4, S.4309; Int3, Int5, Int13, Int22).

Aus den verschiedenen Verbindungen lassen sich besonders zwei herausgreifen, welche ausführlicher behandelt werden sollen: Steviosid und Rebaudiosid A. Diese beiden Steviolglycoside machen in den Wildpflanzen der Stevia rebaudiana Pflanzen den größten Anteil aus und sind somit auch als erstes entdeckt worden (nach Int13).

Steviosid

= 13-(2-O-β-D-Glucopyranosyl-β-D-glucopyranosyloxy)-ent-kaur-16-en-19-säure-19-β-D-glucopyranosylester

Das häufigste Steviolglycosid Steviosid ist auch unter den Namen Eupatorin, Rebaudin, Stevin oder Steviosin bekannt und stellt zwischen fünf und 22 Prozent der Trockenmasse der Blätter dar. Steviosid ist ein fein-kristallines Pulver ohne Geruch mit der Summenformel $C_{38}H_{60}O_{18}$ und einer molaren Masse von 804,87 g/mol.

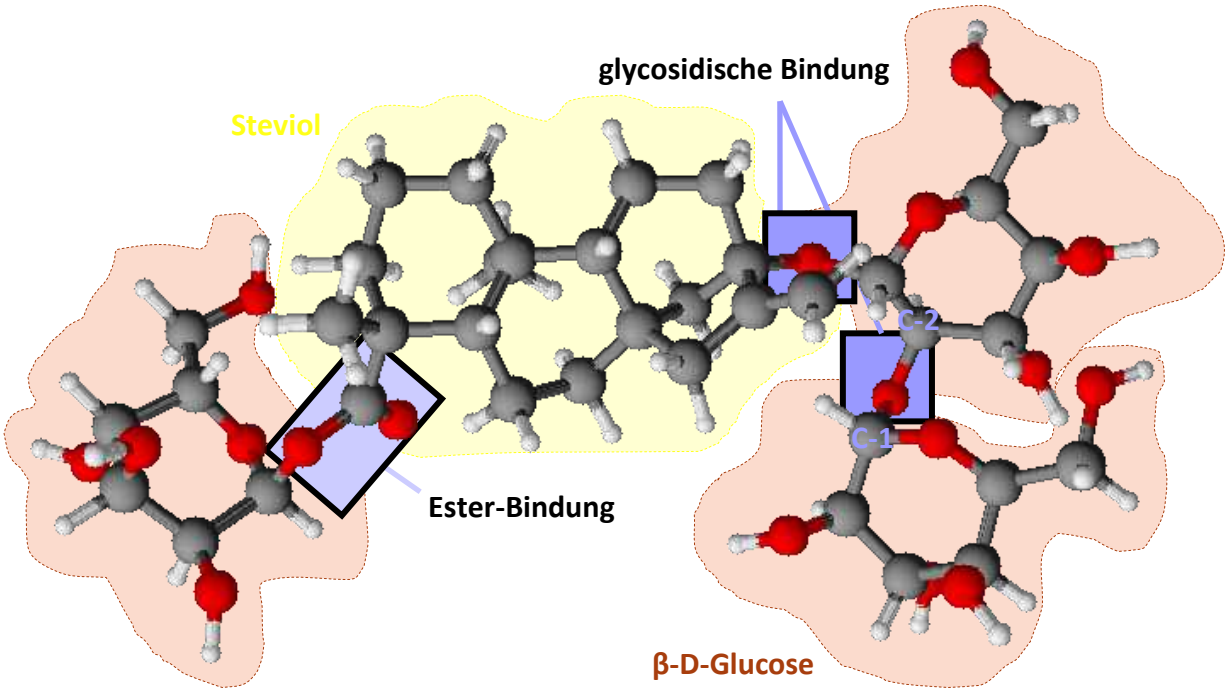


Abb 48 Steviosid-Molekül

Farbloses Steviosid-Pulver lässt sich durch das Enzym Diastase in das Monosaccharid und das Terpenoidaglycon spalten (nach Lit4, S.4309; Int13, Int22, Int23).

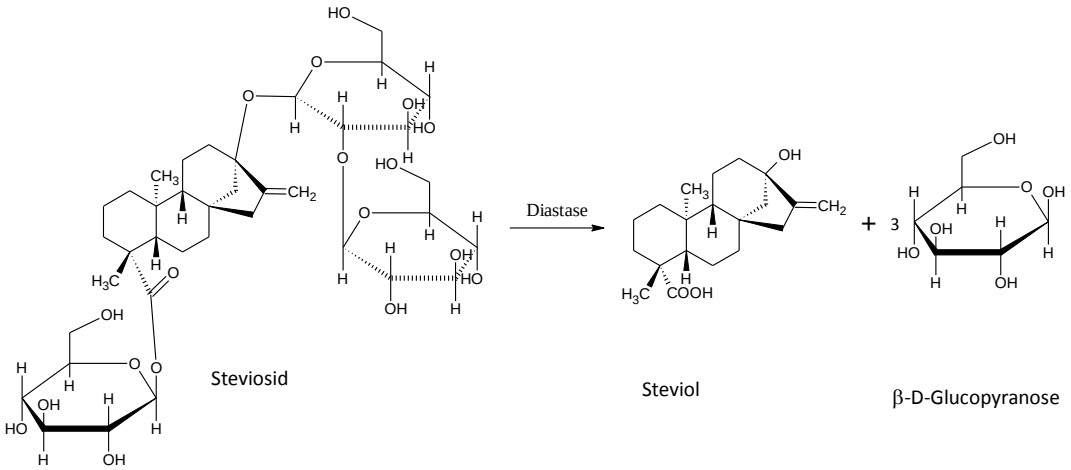


Abb 49 enzymatische Spaltung von Steviosid

Die Säure-katalysierte Hydrolyse führt zu Isosteviol, welches ebenso wie Steviol in Wasser sauer reagiert (nach Int13).

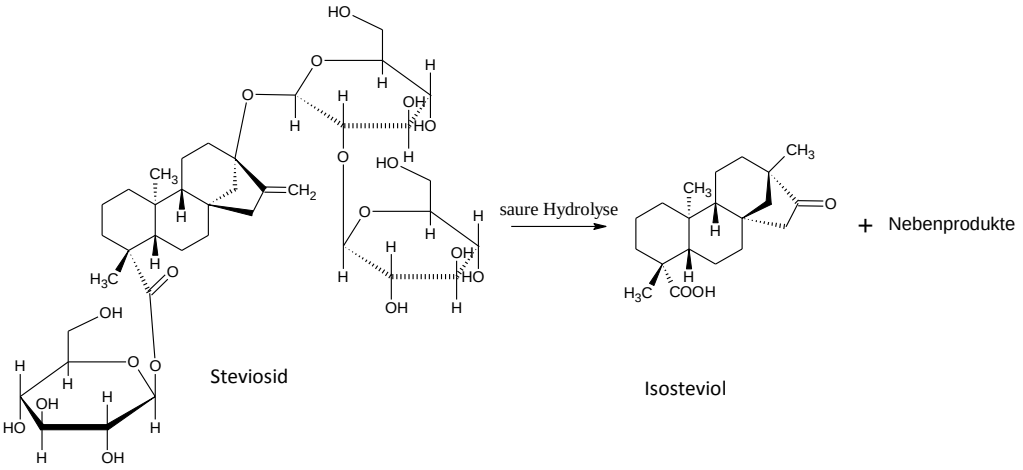


Abb 50 saure Hydrolyse von Steviosid

Bei Zugabe einer starken Base entsteht aus dem häufigsten Stevia-Süßstoff Steviolbiosid (nach Int13).

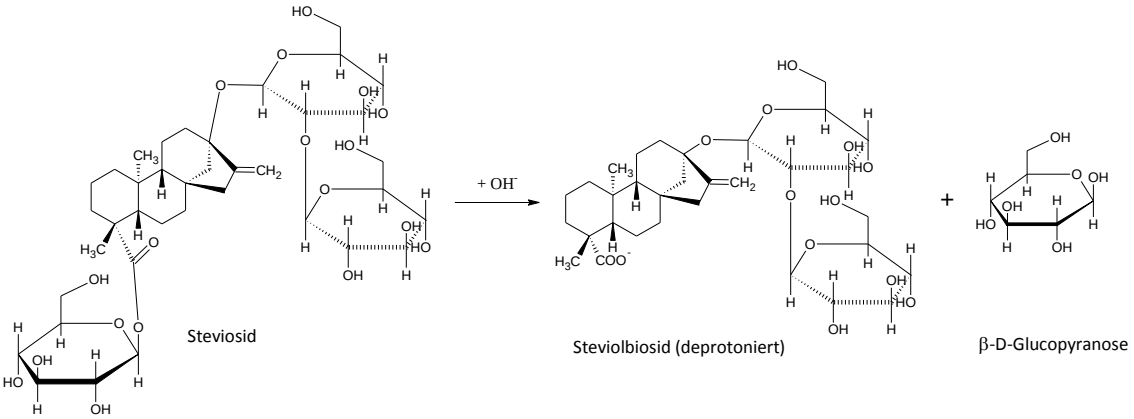


Abb 51 alkalische Spaltung von Steviosid

Nach Steviosid ist Rebaudiosid A in ursprünglichen Stevia rebaudiana Pflanzen der zweithäufigste Süßstoff. Aufgrund verschiedener Züchtungen ist diese Verbindung in neuen Sorten bei den Steviolglycosiden anteilsmäßig an erster Stelle (nach Int13, Int22).

Rebaudiosid A

= 13-(2-O-β-D-Glucopyranosyl-3-O-β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranosyloxy)-ent-kaur-16-en-19-säure-19-β-D-glucopyranosylester

Mit einem Massenanteil von ca. 25 bis 54% des im Süßblatt enthaltenen Steviosids ist Rebaudiosid A der begehrteste Süßstoff aus der Stevia rebaudiana. Aufgrund eines zusätzlich gebundenen Glucose-Moleküls im Vergleich zu Steviosid ist dieses Diterpenglycosid mit der Summenformel $C_{44}H_{70}O_{23}$ und der molaren Masse 967,01 g/mol

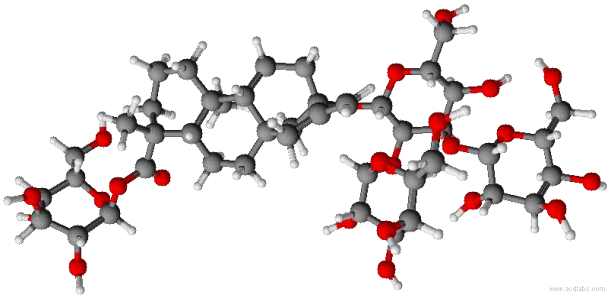


Abb 52 Rebaudiosid A

besser wasserlöslich als das Eupatorin. Unter Einwirkung des Enzyms Hesperidinase oder bei der alkalischen Esterhydrolyse wird Steviosid A_3, wie Rebaudiosid A auch bezeichnet wird, teilweise gespalten und es entsteht Rebaudiosid B (nach Int3, Int13).

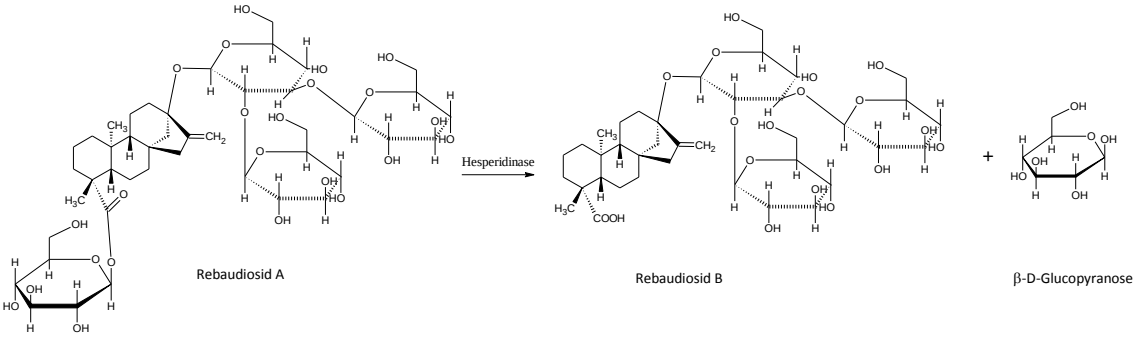


Abb 53 enzymatische Spaltung von Rebaudiosid A

Die säurekatalysierte Spaltung von Rebaudiosid A führt zu Isosteviol (Int13).

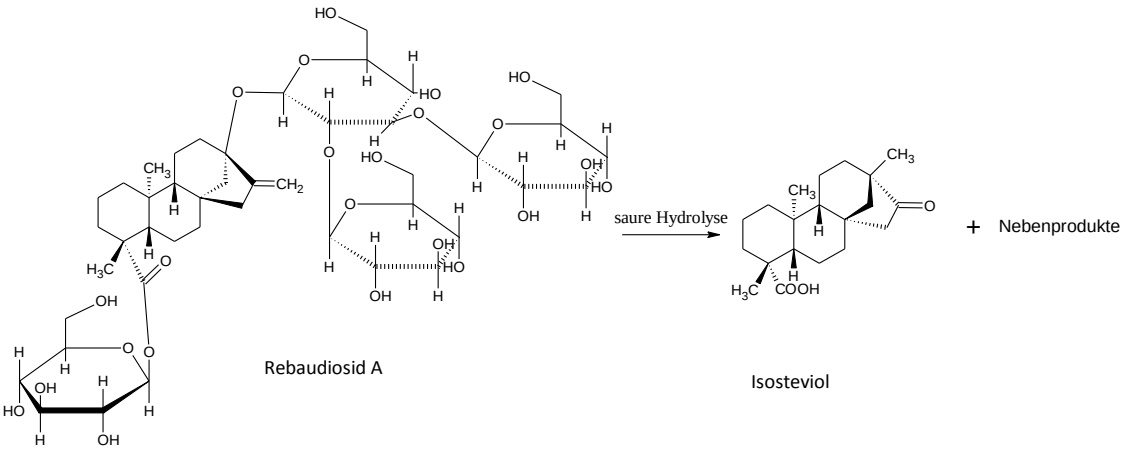


Abb 54 saure Hydrolyse von Rebaudiosid A

Ebenso wie Rebaudiosid A kann auch Rebaudiosid D in alkalischer Lösung teilweise zu Rebaudiosid B zersetzt werden. Der pflanzliche Süßstoff selbst kommt wie die übrigen Rebaudioside nur in Spuren in der Pflanze vor. Nach den näher betrachteten Steviolglycosiden haben Rebaudiosid C und Dulcosid A den höchsten Anteil an der Mischung der Steviolglycoside (nach Int5, Int13, Int15).

Rebaudiosid C ($C_{44}H_{70}O_{22}$) unterscheidet sich von Rebaudiosid A durch die Bindung eines α-L-Rhamnose-Moleküls anstelle von β-D-Glucopyranose. Dulcosid A ($C_{38}H_{60}O_{17}$) und Steviosid weisen eine entsprechende Ähnlichkeit auf. Zuweilen wird auch von Dulcosid B und Rebaudiosid B als natürliche Süßstoffe der Blätter berichtet. Dabei ist jedoch Dulcosid B mit der Verbindung Rebaudiosid C identisch. Von Rebaudiosid B wird angenommen, dass es wie oben beschrieben während der Extraktion aus den Blättern aus Rebaudiosid A entsteht und kein ursprünglicher Bestandteil der Stevia rebaudiana ist. Ähnliches gilt für weitere der 20 entdeckten Verbindungen, darunter das schon beschriebene Steviolbiosid (nach Int13, Int22).

Ist zwar die biosynthetische Herkunft von Rubusosid in Stevia rebaudiana noch nicht gelüftet, so kann doch eine interessante Parallele zur Chinesischen Brombeere (Rubus suavissimus) gezogen werden. Dieses Rosengewächs bildet ähnlich wie das Süßkraut aus Paraguay in seinen Blättern ein um ein Vielfaches von Zucker süßeres Steviolglycosid, nämlich Rubusosid. Abgesehen von diesem Gewächs sind außerhalb der Gattung Stevia keine weiteren Pflanzen bekannt, welche süße Diterpenglycoside synthetisieren. (nach Lit4, S.37; Int24).

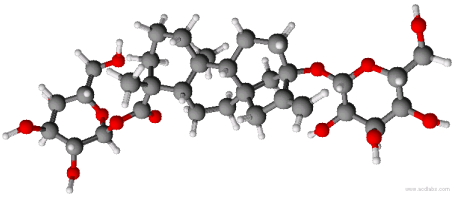


Abb 55 Rubusosid

Abb 56 Chinesische Brombeere (Rubus suavissimus)

Ausgehend von den natürlichen Steviolglycosiden des Süßkrauts werden Bestrebungen zur synthetischen Qualitätsverbesserung der Süßstoffe unternommen. Durch Bindung zusätzlicher Zuckermoleküle an die pflanzlichen Diterpenglycoside mit Hilfe von Enzymen sollen Produkte mit sehr gutem Geschmack entstehen (nach Int15).

Um wie viel mehr steckt jedoch in der Pflanze selbst? Neben den Steviolglycosiden in Stevia rebaudiana finden sich zahlreiche weitere Photosyntheseprodukte sowie anorganische Stoffe. Eine ausführliche Besprechung der Verbindungen ist schier unmöglich, deshalb soll über markante Verbindungen nur ein Überblick gegeben werden.

3.1.1.3 Weitere (nicht-süße) Verbindungen

In Anlehnung an die Steviolglycoside sticht zunächst die Stoffgruppe der Terpene unter den weiteren Inhaltsstoffen der süßen Blätter hervor. Neben den Glykosiden des ent-Kauren-Derivats Steviol liegen weitere Diterpenglycoside vor, welche sich von der Struktur des Labdans ableiten lassen. Nennenswert sind hierzu Jhanol, Austroinulin, 6-O-Acetylaustroinulin, 7-O-Austroinulin sowie die Sterebine A bis H (s. Abb 57) (nach Int13, Int25).

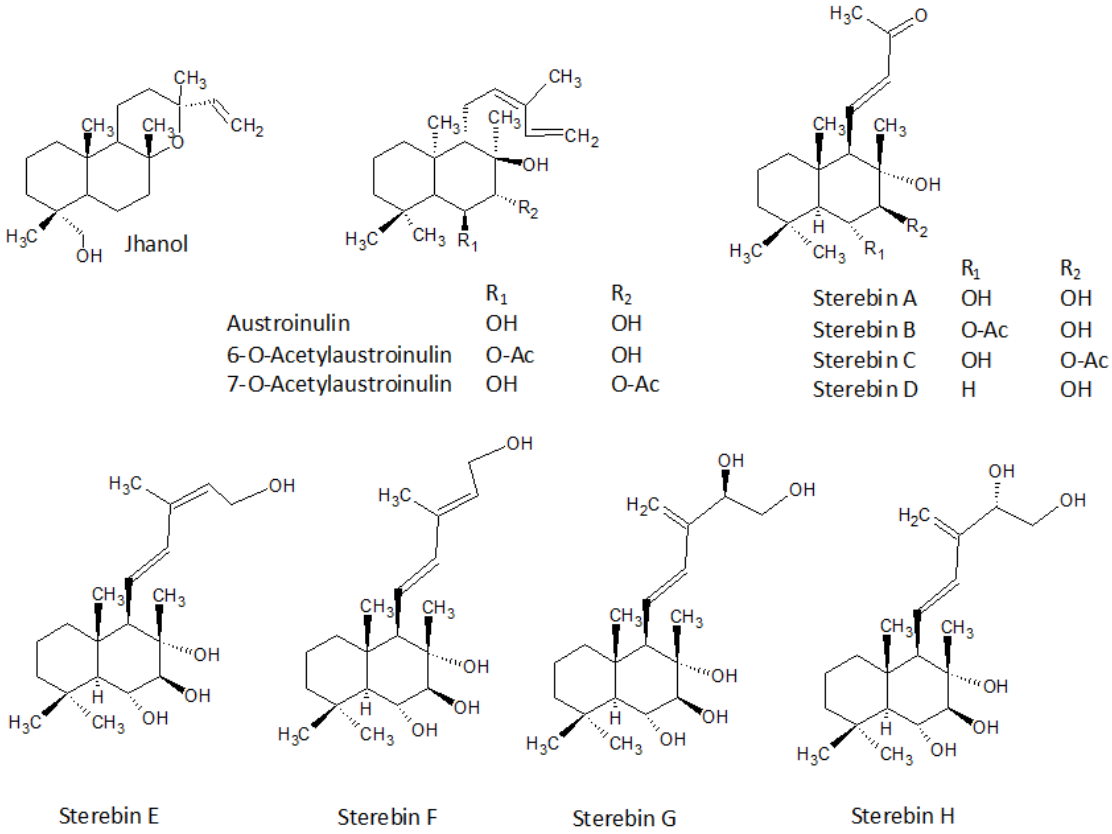


Abb 57 Diterpenoide mit Labdan-Gerüst aus Stevia rebaudiana

Werden Produkte aus früheren Schritten der Terpensynthese betrachtet, so lassen sich ebenso wie die Diterpene auch Mono- und Sesquiterpene aufzählen. Diese werden mit einigen Carbonylverbindungen sowie Alkoholen zu den ätherischen Ölen zusammengefasst. Campher, Geraniol oder α-Pinen stellen eine kleine Auswahl an Monoterpenen aus dem Süßblatt dar. Ähnlich lassen sich aus der Gruppe der Sesquiterpene β-Caryophyllen, trans-β-Farnesen oder α-Humulen exemplarisch herausgreifen. Die Liste an ähnlichen Verbindungen ließe sich noch lange fortsetzen (nach Lit3, S.59/S.61; Int13, Int26).

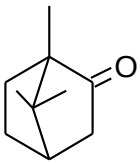


Abb 59 Campher - ein Monoterpen

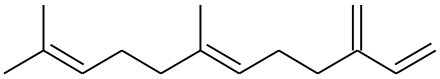


Abb 58 trans-β-Farnesen - ein Sesquiterpen

An die bereits besprochenen Diterpene und Diterpenoide lassen sich Triterpene anreihen, welche ebenfalls aus der Terpensynthese in Stevia rebaudiana hervorgehen. Natürliche Derivate dieser C30-Verbindungen sind in den Blättern des Honigkrauts unter anderem β-Amyrin-Acetat und Lupeol-3-palmitate (nach Lit3, S.62; Int13, Int27).

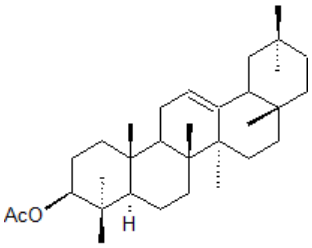


Abb 60 β-Amyrin-Acetat

Als Spezialisierung der Triterpene können die tetracyclischen Steroide angeführt werden, welche sich formal vom Steran ableiten. Häufig treten die tetracyclischen Verbindungen der Stevia-Blätter in Form von Sterolen auf. Das heißt sie sind Steroide, welche am C-3-Atom eine Hydroxygruppe, an C-5 eine C-C-Doppelbindung und an C-17 eine Seitenkette aufweisen. Als allgemein bekannt lassen sich hierbei β-Sitosterol und Stigmasterol hervorheben. In Analogie zu den Diterpenglycosiden liegen ebenso Steroidglycoside in Form von β-Sitosterol-β-D-glucosid und Stigmasterol-β-D-glucosid vor (nach Lit3, S.67; Int13, Int27, Int28).

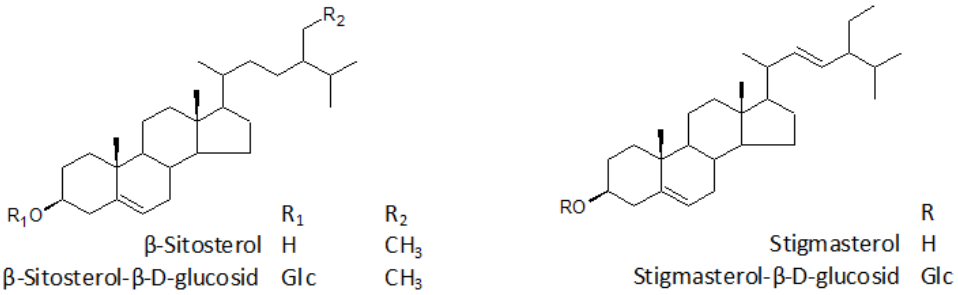
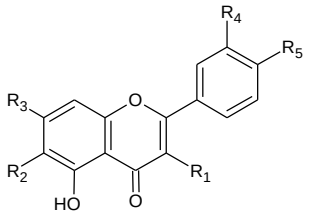


Abb 61 Sterole und Steroid-Glycoside

Als letzte eigene Gruppe organischer Verbindungen sollen schließlich die Flavonoide erwähnt werden. Diese Polyphenole lassen sich in verschiedene Gruppen (Anthocyane, Flavanole, Flavanone, Flavone, Flavonole und Isoflavanoide) untergliedern. Ihre Gemeinsamkeit sind zwei aromatische und ein durch ein Sauerstoffatom heterocyclischer Kohlenstoffring. Acht von neun der in der Stevia rebaudiana identifizierten Verbindungen dieser Stoffgruppe kommen in Form glycosisdisch gebundener Flavonole oder Flavone vor. Zuckerreste sind hierbei β-D-Glucopyranose (Glc), α-L-Rhamnopyranose (Rha), α-L-Arabinopyranose (Ara) und Rutinose (6-O- α-L-Rhamnopyranosyl-β-D-glucopyranose; Rut). Als bekannte Verbindung der Flavonole kann das Quercetin-Derivat Quercetin-3-O-glucosid genannt werden. Entsprechend lässt sich Apigenin-7-O-glucosid vom Flavon Apigenin ableiten. Centaureidin stellt das einzige identifizierte Flavonoid ohne glycosidisch gebundene Zuckerreste dar. Aufgrund des gemeinsamen aromatischen Grundgerüsts weisen die genannten Flavonoide ein delokalisiertes Elektronensystem auf und absorbieren Licht aus dem sichtbaren Bereich (blau-violett). Daraus resultiert die hellgelbe Färbung von Apigenin,

Kämpferol oder Quercetin. Einen Überblick über die aus Stevia rebaudiana identifizierbaren Flavonoide gibt Abbildung 62 (nach Lit3, S.33; Int13, Int29).



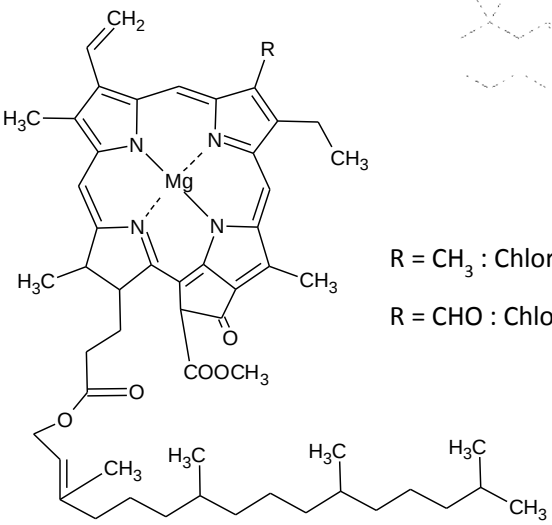
	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5
Apigenin-4'-O-glucosid	H	H	OH	H	Glc
Apigenin-7-O-glucosid	H	H	Glc	H	OH
Centaureidin	O-CH_3	O-CH_3	OH	OH	O-CH_3
Kämpferol-3-rhamnosid	Rha	H	OH	H	OH
Luteolin-7-O-glucosid	H	H	Glc	OH	OH
Quercetin-3-O-arabinosid	Ara	H	OH	OH	OH
Quercetin-3-O-glucosid	Glc	H	OH	OH	OH
Quercetin-3-O-rhamnosid	Rha	H	OH	OH	OH
Quercetin-3-O-rutinosid	Rut	H	OH	OH	OH

(= Quercetin-3-O-(6-O-α-L-rhamnopyranosyl-β-D-glucopyranosid))

Abb 62 Struktur der Flavonoide aus Stevia rebaudiana

Da die oben beschriebenen Verbindungen aus der Photosynthese der Blätter hervorgehen, müssen die Blattfarbstoffe Chlorophyll A und B zusätzlich erwähnt werden. Auch β-Carotin kann als Extraktionsprodukt der Stevia rebaudiana Blätter benannt werden. Organische Säuren, darunter neben Ameisensäure (= Methansäure), L-Apfelsäure (= L-2-Hydroxybutandisäure), Bernsteinsäure (= Butandisäure), Milchsäure (= 2-Hydroxypropansäure), Oxalsäure (= Ethandisäure) und Zitronensäure (= 2-Carboxy-2-hydroxy-butandisäure) vor allem die Weinsäure (L-2,3-Dihydroxybutandisäure), sind ebenso in den Blättern des Honigkrauts enthalten (nach Lit2, S.159/S.809; Lit5, S.34/S.42; Int8, Int13).

Abb 63 β-Carotin



R = CH_3 : Chlorophyll a

R = CHO : Chlorophyll b

Abb 64 Struktur des Chlorophylls

Weiterhin stellen verschiedene Kohlenhydrate (z.B. Cellulose) mehr als die Hälfte der Blatttrockenmasse von Stevia rebaudiana dar. Es steht außer Frage, dass die Blätter

des Süßkrauts zudem eine Reihe an pflanzlichen Proteinen (ca. 10% der Trockenmasse), pflanzlichen Ölen und Fetten (ca. 5-6% der Trockenmasse) und Faserstoffen (ca. 15% der Trockenmasse) enthalten. Damit seien, trotz keiner ausführlicheren Besprechung im Rahmen der vorliegenden Seminararbeit, alle wichtigen organischen Bestandteile der Stevia rebaudiana benannt (nach Lit1, S.34-36; Int8).

Neben den in der Pflanze gebildeten oder aufgenommenen organischen Verbindungen, können im Stevia-Extrakt etwa 13% anorganische Stoffe nachgewiesen werden. Der Hauptbestandteil hiervon ist das als Kation vorliegende Kalium. Weitere Elemente, welche in kationischer oder anionischer Form in Spuren vorliegen, sind Calcium, Chrom, Eisen, Kobalt, Magnesium, Mangan, Natrium, Phosphor, Selen, Silicium, Zink und Zinn (nach Lit1, S.35f.; Int8, Int13).

Ausgehend von der theoretischen Besprechung der Bestandteile der Blätter der Stevia rebaudiana (Bertoni) soll zumindest ein Teil der beschriebenen Verbindungen qualitativ nachgewiesen werden. Im Vordergrund steht besonders der Nachweis der süßen Steviolglycoside. Auf Grundlage der mikroskopischen Betrachtung der Blätter und des Blattextraktes der Stevia rebaudiana können diese von anderen Blattbestandteilen abgegrenzt werden.

3.1.2 Analyse der (süßen) Inhaltsstoffe

Eine direkte Nachweismethode für die sechs in der ursprünglichen Stevia rebaudiana aus Südamerika vorkommenden Süßstoffe, wie sie etwa in Form der Lugolschen-Lösung für Stärke vorliegt, fehlt. Aus diesem Grund werden zwei Schritte unternommen, um die Steviolglycoside in den Blättern der Stevia rebaudiana zu identifizieren.

3.1.2.1 Mikroskopische Betrachtung von Blatt und Blattextrakt

Die Untersuchung der Stevia-Blätter soll die Praxis der Seminararbeit vom Anbau zur Gewinnung der Süßstoffe aus den Blättern überleiten. Mit Hilfe der Mikroskopie von Blattextrakten soll die optische Ähnlichkeit von käuflichem Steviolglycosid-Extrakt und selbst gewonnenem Extrakt-Pulver überprüft werden. Der selbst gewonnene Blattextrakt der Stevia rebaudiana Pflanze geht aus dem später im Abschnitt 3.2.3.2 beschriebenen Verfahren hervor. Es ist anzunehmen, dass sich die beiden Stevia-Extrakte in ihrer Pulverform durch die Oberflächenbeschaffenheit ähneln.

Materialien und Geräte: Lichtmikroskop (SBX-5 Seben), Objektträger, Deckglas, Skalpell, Pipette, Nadel, LED-Lampe

Chemikalien: Wasser, Stevia-Blatt, Steviosid-Pulver [95%; VitaNatura.de], Stevia-Blattextrakt (selbst gewonnen, s. Abschnitt 3.2.3.2)

Aufbau und Durchführung:

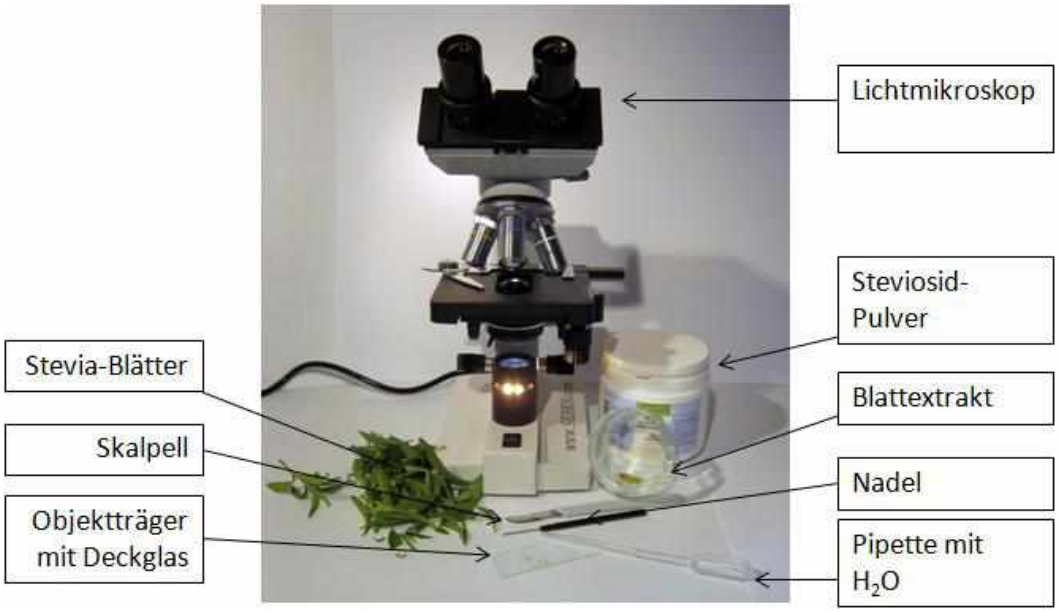


Abb 65 Mikroskopische Untersuchung von Blatt und Blattextrakt

(1) Mit dem Skalpell wird von einem Stevia-Blatt ein dünner Querschnitt entnommen.

(2) Auf einen sauberen Objektträger wird nacheinander der Querschnitt des Stevia-Blatts, das Steviosid-Pulver und das selbst gewonnene Blatt-Extrakt-Pulver mit Hilfe einer Nadel aufgetragen.

(3) Auf die Blattschicht wird ein Tropfen Wasser gegeben und dann das Deckglas langsam darauf gelegt. Die Steviosid- und Blatt-Extrakt-Pulver werden ohne Deckglas und Wassertropfen analysiert. Hierbei wird zur Beleuchtung der Oberfläche des Pulvers eine zusätzliche LED-Lampe verwendet.

(4) Der Objektträger wird mit einer Metallklammer am Objekttisch befestigt. Durch spezielle Einstellungen von Grob- und Feintrieb kann bei verschiedenen Objektiven (4x, 10x, 20x) das vorliegende Objekt genau analysiert werden.

Die Beobachtungen werden mit Hilfe von Fotos festgehalten.

Beobachtung und Auswertung:

Blattquerschnitt

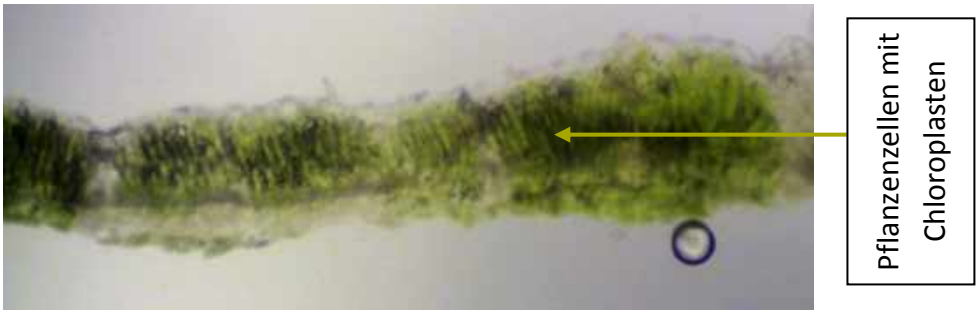


Abb 66 Blattquerschnitt unter dem Lichtmikroskop

- regelmäßiges Muster mit länglich-rechteckigen Segmenten → Zellstruktur des Blattes
- punktuell grüne Färbung → Chloroplasten mit grünen Blattfarbstoffen Chlorophyll a und b zur Photosynthese
- länglich, spitz zulaufende farblose Zellgruppen → Härchen der Blattoberfläche gegen Verdunstung und Schädlinge ohne Beitrag zur Photosynthese (farblos ohne Chloroplasten)

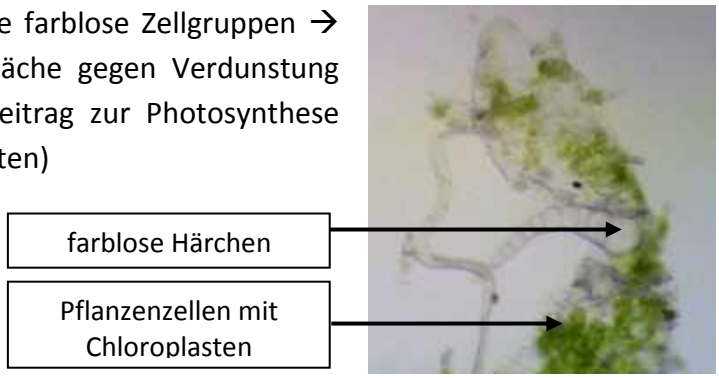


Abb 67 Ausschnitt aus einer Blattschicht

Steviosid-Pulver

- farblos poröse Substanz mit kugelförmigen Bestandteilen
  → kristalline Steviolglycoside in Molekülgitter
- homogen → keine wahrnehmbaren Verunreinigungen
- glänzende Teilchenoberfläche
  → Hygroskopie der Steviolglycoside
  → Reflexion einfallenden Lichts

Abb 68 Steviosid-Pulver unter dem Lichtmikroskop

Blatt-Extrakt-Pulver

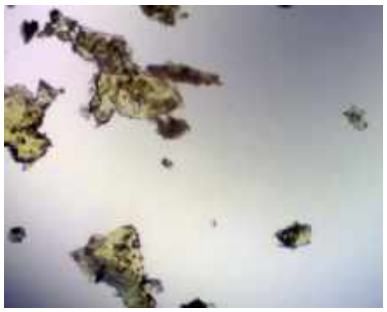


Abb 69 Blatt-Extrakt-Pulver unter dem Lichtmikroskop

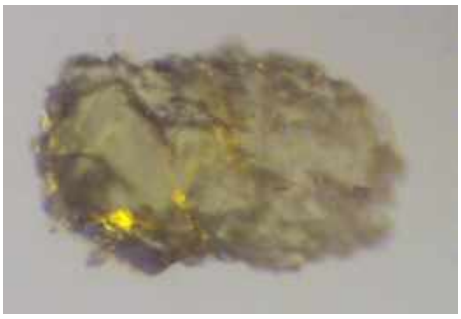


Abb 70 Blatt-Extrakt-Kristall

- dünne, beige-hellgrüne Plättchen mit unregelmäßiger Oberfläche
  → kein Reinstoff sondern Gemisch verschiedener Extraktionsprodukte, welche zu einem unregelmäßigen Molekülgitter verbunden sind
  → beige-grüne Färbung:
    1. Chlorophyll-Rückstand und dessen Abbauprodukte beim zur Kristallisation nötigen Erhitzen des Blatt-Extrakts
    2. mit dem Lösungsverhalten der Steviolglycoside vergleichbare Flavonoid-Glycoside mit hellgelber Farbe
- glatte, nicht-feuchte Oberfläche → kaum oder keine hygroskopische Wirkung aufgrund Molekülgitter mit anderen, nicht hygroskopischen Verbindungen (z.B. Chlorophyll)

Entgegen der Vermutung, eine ähnliche Struktur zwischen dem Steviosid-Pulver und dem selbst gewonnenen Blatt-Extrakt-Pulver identifizieren zu können, weisen die beiden Extrakte keine oberflächigen Ähnlichkeiten auf. Dies deutet darauf hin, dass im selbst gewonnenen und mit Isobutanol gereinigten Stevia-Extrakt zahlreiche Verunreinigungen durch weitere pflanzliche Stoffe vorliegen. Dabei ist anzunehmen, dass die im Blatt-Extrakt enthaltenen Fremdstoffe ein ähnliches Lösungsverhalten und ähnliche Molekülmassen wie die Steviolglycoside aufweisen und so beim angewandten Reinigungsverfahren nicht von diesen abgetrennt werden.

3.1.2.2 Nachweis von Stevia-Extrakt-Bestandteilen mit Dünnschichtchromatographie

Aus der vorhergehenden, mikroskopischen Betrachtung eines Stevia-Blattes lässt sich eindeutig das Vorliegen des für die Photosynthese essentiellen Blattfarbstoffs Chlorophyll ableiten. Der Vergleich der verschiedenen Stevia-Extrakte führt dagegen zu keinem eindeutigen Ergebnis bezüglich im Blattextrakt enthaltener Stoffe. Aus diesem Grund wird zur Trennung der Blattbestandteile das Verfahren der Dünnschichtchromatographie angewendet.

3.1.2.2.1 Vorversuch zur vergleichenden Dünnschichtchromatographie

Zur Ermittlung der besten Kombination aus Laufmittel und Trägerplatte werden in einem Vorversuch die Bedingungen für die Dünnschichtchromatographie variiert. Weiterhin muss eine Möglichkeit gefunden werden, die farblosen Steviolglycoside auf den weißen Trägerplatten sichtbar zu machen.

Materialien und Geräte: Trägerplatten (Al_2O_3, Kieselgel, Cellulose), Mikropipetten, Becherglas, 5 Trennkammern (= Schraubgläser), Pinzette, Bleistift, Lineal, UV-Lampe, 3 Sprühflaschen, Föhn

Chemikalien: Wasser, Ethanol, Propan-2-ol, Aceton, Kaliumpermanganat-Lösung, Vanillin-Lösung, Thymol-Lösung, Steviosid-Pulver [95%; VitaNatura.de]

Sicherheitshinweis: Durchführung unter Beachtung der Sicherheitsbestimmungen für den Unterricht (gemäß R-/S-Sätze)

Aufbau und Durchführung:

Abb 71 Aufbau zur DC

(1) Zur Vorbereitung der Dünnschichtchromatographie (DC) werden für die fünf Laufmittel Wasser, Ethanol, Propan-2-ol, Aceton und n-Hexan jeweils drei Trägerplatten mit verschiedenen Beschichtungen (Al_2O_3, Kieselgel, Cellulose) beschriftet und etwa einen Zentimeter vom unteren Rand der Trägerplatten eine dünne Startlinie skizziert.

(2) Aus dem Steviosid-Pulver wird unter Zugabe von wenig Wasser eine konzentrierte Steviolglycosid-Lösung hergestellt. Mit Hilfe einer Mikropipette wird diese auf die Startlinien der DC-Platten mehrmals hintereinander aufgetragen.

(3) Die fertigen Trägerplatten werden in die mit den unterschiedlichen Flüssigkeiten gefüllten Schraubgläser (→ Trennkammern) so hineingestellt, dass die Startlinie am unteren Teil der Platten ist.

(4) Nach der erfolgten Verteilung der mobilen Phase über die Trägerplatten werden diese den Gläsern entnommen und an der Luft getrocknet. Die Spuren des Steviosid-Extrakts werden durch die Belichtung mit einer UV-Lampe sowie durch Besprühen mit den Lösungen von Kaliumpermanganat (in Wasser gelöst), Thymol und Vanillin verfolgt. Zur Färbung der Trägerplatten werden diese nach dem Auftragen von Thymol und Vanillin mit dem Föhn für ca. eine Minute erhitzt.

Beobachtungen und Auswertung:

Verteilung der mobilen Phase

- gleichmäßige Verteilung der Flüssigkeiten → Wirkung von zwischenmolekularen Kräften zwischen Trägerplatten (polar) und Laufmitteln in Form von Van-der-Waals-Kräften (→ n-Hexan) sowie Dipol-Dipol-Wechselwirkungen und Wasserstoffbrückenbindungen (Ethanol, Wasser, etc.)
- unterschiedliche Ausbreitungsgeschwindigkeit der Laufmittel → verschiedene Molekülgrößen und -massen sowie unterschiedliche Polarität der Flüssigkeiten
- farblos-weiße DC-Platten nach Verdampfen der Laufmittel → keine Identifizierung des Steviosid-Pulvers möglich

Belichtung mit UV-Lampe

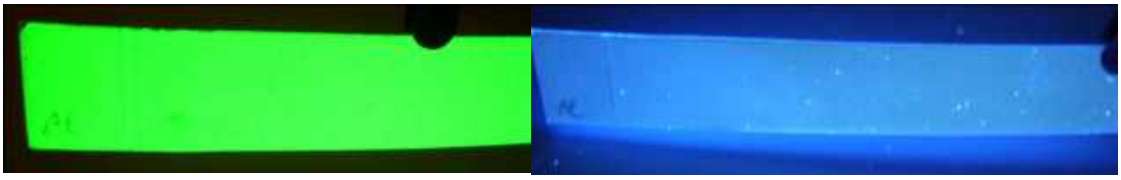
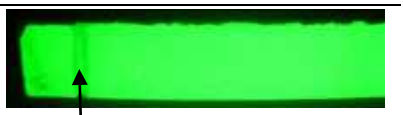


Abb 72 Betrachtung der DC-Platten bei UV-Licht; links: kurzwellig; rechts: längerwellig

- blau-violette und grüne Farbe der Platten → Absorption von UV-Licht mit anschließender Emission von längerwelligem Licht aus dem sichtbaren Bereich durch die Beschichtung der DC-Platten
- „hellere“ Stellen/Bereiche auf den Platten bei längerwelligem UV-Licht bzw. „dunklere“ Stellen bei kurzwelligem UV-Licht→ Beeinflussung der Absorption von Licht durch das mit den Laufmitteln mitgeführte Steviosid-Pulver:

Laufmittel		
n-Hexan	Steviosid-Pulver auf Startlinie → bindende Adsorption der stark polaren Diterpenglycoside an die polaren Trägerplatten ohne Ablösen der Moleküle durch unpolares Laufmittel	 Süßststoff-Bande
Aceton	geringe Mitnahme des Steviosid-Pulvers über DC → polare mobile Phase löst an die Trägerplatte adsorbierte Steviolglycoside geringfügig ab	 Süßststoff-Bande
Propan-2-ol	Verteilung des Steviosid-Pulvers über 0,5 bis 1,0 cm nach der Startlinie → polare mobile Phase überwindet Wechselwirkungen der Steviolglycoside mit der polaren stationären Phase	 Süßststoff-Bereich
Ethanol	weitere Verteilung des Steviosid-Pulvers → Zunahme der Polarität des Lösungsmittels	 Süßststoff-Bereich
Wasser	Mitnahme des Steviolglycosid-Pulvers über die Hälfte der Trägerplatte → stark polares Laufmittel löst Steviolglycoside von Platten ab	 Süßststoff-Bereich

Tab 3 Beobachtung und Auswertung der DC: Betrachtung mit UV-Lampe

Besprühen mit Farbreagenzien

- Vanillin-Lösung: Verfärbung beim Erhitzen (von farblos nach blau)
  → helle Stellen als Indiz für vorliegendes Steviosid-Pulver, welches die Farbreaktion von Vanillin beeinflusst

Abb 73 DC-Platte mit Vanillin (Beschichtung: A_2O_3; Laufmittel Ethanol; Laufrichtung links-rechts)

- Thymol-Lösung: Verfärbung beim Erhitzen (von farblos nach pink); Schwärzung
  → Farbreaktion ohne Beeinflussung durch Steviosid-Pulver (keine farblich unterschiedlichen Stellen)
  Schwarzfärbung bei Cellulose-Beschichtung aufgrund thermischer Zersetzung

Abb 74 DC-Platte mit Thymol (Beschichtung: Cellulose; Laufmittel Ethanol; Laufrichtung links-rechts)

- $KMnO_4$-Lösung: Verfärbung der violetten $KMnO_4$-Lösung (von violett nach pink/orange/gelb/braun)
  → unterschiedliche Oxidation der MnO_4^--Ionen bei Kontakt mit der Plattenbeschichtung und den Steviolglycosiden

Abb 75 DC-Platte mit $KMnO_4$-Lsg (Beschichtung: A_2O_3; Laufmittel: Propan-2-ol; Laufrichtung links-rechts)

Durch das Anfärben mit $KMnO_4$- und Vanillin-Lösung der Trägerplatten kann das farblose Steviosid-Pulver von der Beschichtung farblich abgegrenzt werden. Die Ergebnisse des Anfärbens bestätigen die vagen Beobachtungen der Betrachtung der Platten mit UV-Licht. Thymol zeigt keine aussagekräftige Farbveränderung, welche dem Nachweis der Steviolglycoside dienlich ist.

Optimierung:

- Laufmittel: starke Polarität der Steviolglycoside → polare Laufmittel (evtl. in Mischung)
- Sichtbarmachung der Steviolglycoside:
  - UV-Lampe/Thymol-Lösung: nicht geeignet (kaum Abgrenzung der Steviolglycoside auf der DC-Platte möglich)
  - Vanillin-Lösung: geeignet
  - $KMnO_4$-Lösung: geeignet → zusätzliche Farbabstufungen zur Abgrenzung verschiedener Stoffe → Anwendung in weiteren Versuchen
- vergleichende Dünnschichtchromatographie: Stevia-Extrakt und Vergleichsextrakte

3.1.2.2.2 Erste vergleichende Dünnschichtchromatographie

In Anlehnung an die Vorversuche und deren Erkenntnisse über Verbesserungsmöglichkeiten sollen die Inhaltsstoffe der Stevia-Blätter auf verschiedene Bestandteile hin untersucht werden. Im Vordergrund steht die Identifizierung der süßen Steviolglycoside, welche sich über die Abgrenzung von Blattfarbstoffen nachweisen lassen. Als Vergleichsextrakte zu einem frisch hergestellten Stevia-Extrakt werden eine Petersilien- und eine Steviosid-Lösung verwendet.

Materialien und Geräte: Mörser, Pistill, Trichter, Filterpapier, 2 Bechergläser, Trägerplatten (Al_2O_3), 3 Mikropipetten, 6 Trennkammern (= Schraubgläser), Sprühflasche, Pinzette, Bleistift, Lineal

Chemikalien: Brennspiritus (94%), Ethanol, Propan-2-ol, Butan-1-ol, Aceton, Petrolether, Kaliumpermanganat-Lösung, Steviosid-Pulver [95%; VitaNatura.de], Stevia-Blätter (frisch), Petersilie (frisch)

Sicherheitshinweis: Durchführung unter Beachtung der Sicherheitsbestimmungen für den Unterricht (gemäß R-/S-Sätze)

Aufbau und Durchführung:

Abb 76 Aufbau zur ersten vergleichenden DC

(1) Aus den Stevia-Blättern bzw. der Petersilie wird durch Zerreiben im Mörser unter Zugabe von wenig Brennspiritus eine Suspension hergestellt, dessen gesättigte Lösung durch Filtration vom pflanzlichen Material getrennt wird. Aus dem Steviosid-Pulver wird mit Brennspiritus ebenso eine gesättigte Lösung hergestellt.

(2) Auf analoge Weise zu den Vorversuchen werden die DC-Platten (mit Al_2O_3 beschichtet) vorbereitet und auf die Startlinie in drei Punkten die gesättigten Lösungen mit den Mikropipetten mehrmals aufgetragen.

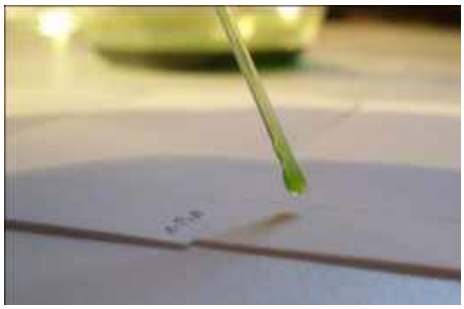


Abb 77 Auftragen gesättigter Stevia-Lösung auf DC-Platten

(3) Die weitere Durchführung der Dünnschichtchromatographie erfolgt mit den Laufmitteln Ethanol, Propan-2-ol, Butan-1-ol, Aceton, Petrolether und dem Gemisch aus Ethanol-Aceton-n-Hexan (3:1:1) gemäß des Vorversuchs. Die Platten werden mit Kaliumpermanganat-Lösung angefärbt.

Es wird angenommen, dass sich bei der Auftrennung der Lösungsbestandteile Übereinstimmungen der Stevia-Extrakt-Lösung mit der Petersilien- sowie der Steviosid-Lösung feststellen lassen. Aus dem Vergleich von Stevia-Extrakt und Petersilien-Lösung müssten sich die Blattfarbstoff Chlorophyll a und b deutlich von weiteren Blattbestandteilen der Stevia rebaudiana abgrenzen lassen. Vorhandene Steviolglycoside müssten sich bei der Auftrennung im Vergleich mit der Steviosid-Lösung identifizieren lassen.

Beobachtungen und Auswertung:

beim Auftragen der Lösungen

konzentrische Kreise unterschiedlicher Färbung beim Stevia-Extrakt (mittig) und Petersilie-Lösung (links)

→ Auftrennung der Bestandteile der Lösungen nach unterschiedlicher Polarität: weniger polare Verbindungen verteilen sich auf der DC-Platte schneller, da sie nicht so stark an die polare stationäre Phase adsorbieren

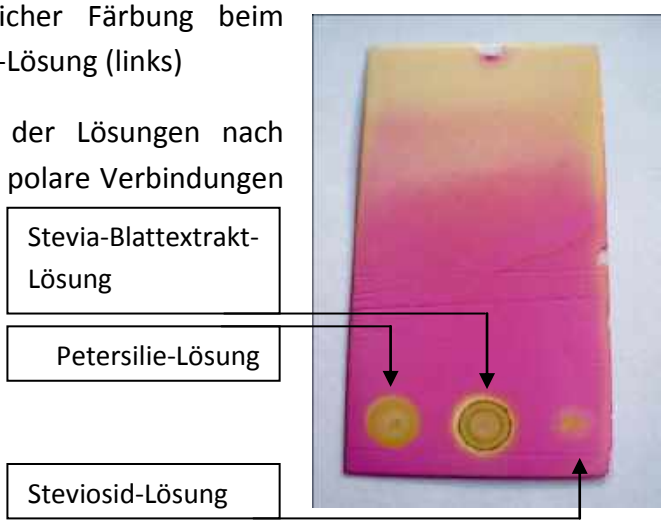


Abb 78 DC-Platte nach dem Auftragen der Lösungen

Auftrennung der Lösungsbestandteile

- Trennung der einzelnen Bestandteile der aufgetragenen Lösungen bei allen sechs Laufmitteln

→ am besten bei reinen Alkoholen (v.a. Butan-1-ol): polare mobile Phase löst adsorbierte Stoffe von der Trägerplatte

- übereinstimmende Bereiche der drei Lösungen
  → Verbindungen, welche mit der stationären Phase in vergleichbaren Wechselwirkungen stehen und so auf gleicher Höhe der DC-Platte adsorbiert werden (s. Abb 79 bzw. Anhang zu 3.1.2.2.2, S.144)

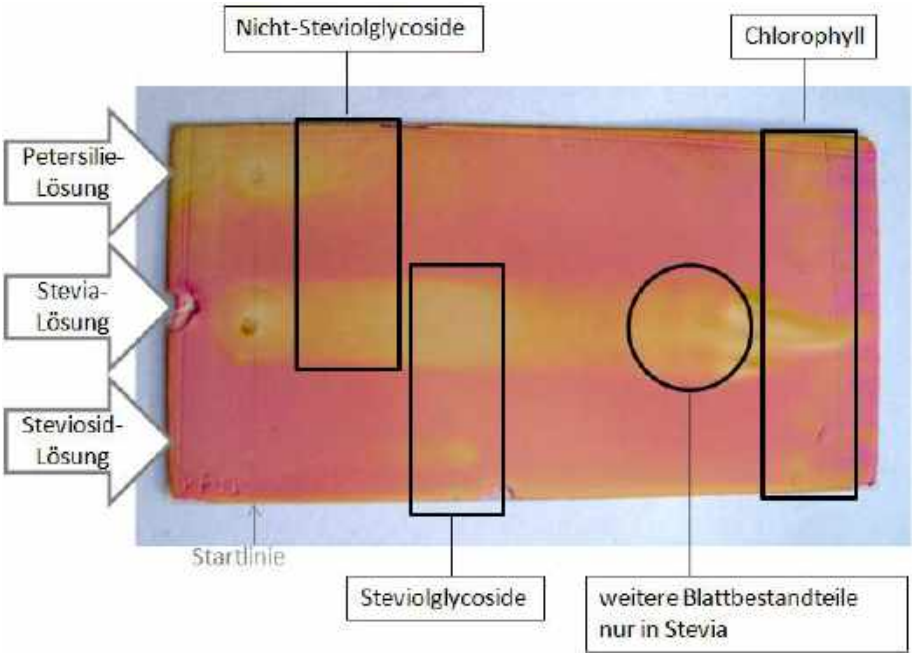


Abb 79 Bestandteile der Stevia-Lösung (Laufmittel Butan-1-ol)

Aufgrund vergleichbarer Färbungen der drei aufgetragenen Substanzen kann mit hoher Sicherheit auf zwei Stoffgruppen geschlossen werden: die **Steviolglycoside** (Übereinstimmung von Stevia-Lösung mit Steviosid-Lösung) sowie **Chlorophyll a und b** (Übereinstimmung aller drei Lösungen). Weiterhin zeigt die Identifizierung letzterer Stoffe, dass auch das zu 95% reine Steviolglycosid-Pulver optisch nicht mehr sichtbare Verunreinigungen durch die grünen Blattfarbstoffe aufzuweisen scheint.

Der Vergleich von Petersilien- und Stevia-Extrakt weist auf eine breite Gruppe gemeinsamer Verbindungen mit hoher Polarität hin, welche bereits schon im unteren Teil der DC-Platte adsorbiert und nicht mehr von der stationären Phase gelöst werden. Es könnte sich hierbei um **stark polare Terpenoide** oder pflanzliche, polare **Proteine** handeln, welche in Wechselwirkung zu den polaren Trägerplatten stehen. Aufgrund der Vielzahl an enthaltenen organischen Substanzen ist eine präzisere Aussage über die betreffenden Stoffe in diesem Rahmen nicht möglich.

Bei den Blattbestandteilen, welche weder mit denen der Petersilie noch mit dem Süßstoffgemisch übereinstimmen, könnte es sich unter anderem um die theoretisch beschriebenen **Diterpenoide** mit Labdan-Gerüst handeln. Sie werden weniger schnell an die Trägerplatte gebunden, da sie im Vergleich zu den Steviolglycosiden eindeutig weniger polar sind.

Im Allgemeinen wird mit der durchgeführten Dünnschichtchromatographie das Ziel, die süßen Bestandteile der Stevia rebaudiana zu identifizieren erreicht.

3.1.2.2.3 Verbesserte vergleichende Dünnschichtchromatographie

Zwar sind die Glycoside der 13-Hydroxy-ent-Kaur-16-en-19-säure durch den Vergleich von Stevia-Extrakt mit einer Steviosid-Lösung nach der Auftrennung der Bestandteile als Gruppe ähnlicher Verbindungen eindeutig bestimmt worden, in einer weiteren Dünnschichtchromatographie soll jedoch ein exakteres Ergebnis ermöglicht werden. Für die zweite vergleichende DC werden nur Stevia-Extrakt und Steviosid-Pulver in Lösung verwendet, die Laufmittel etwas abgeändert, um die Steviolglycoside präziser zu analysieren.

Materialien und Geräte: Mörser, Pistill, Trichter, Filterpapier, Becherglas, Trägerplatten (Al_2O_3), 2 Mikropipetten, 10 Trennkammern (= Schraubgläser), Sprühflasche, Pinzette, Bleistift, Lineal

Chemikalien: Ethanol, Propan-2-ol, Butan-1-ol, Butan-2-ol, Aceton, Kaliumpermanganat-Lösung, Steviosid-Pulver [95%; VitaNatura.de], Stevia-Blätter (frisch)

Sicherheitshinweis: Durchführung unter Beachtung der Sicherheitsbestimmungen für den Unterricht (gemäß R-/S-Sätze)

Aufbau und Durchführung:

Der Versuchsaufbau und die Durchführung des Experiments sind der Beschreibung der vorhergehenden Dünnschichtchromatographie nahezu identisch (vgl. Abschnitt 3.1.2.2.2). Anstelle von drei Lösungen werden nur wässrige Stevia-Extrakt- und Steviosid-Pulver-Lösungen verwendet, welche in einem gesättigten, etwa einen Zentimeter breiten Streifen auf der Startlinie aufgetragenen werden. Als Laufmittel werden die genannten reinen Alkohole und Aceton sowie deren Mischung verwendet.

Nr.	Flüssigkeiten	Mischverhältnis
5	Aceton – Butan-1-ol	1 : 1
6	Aceton – Butan-1-ol	1 : 3
8	Aceton – Ethanol – Butan-1-ol	1 : 1 : 3
4	Butan-1-ol	-
9	Butan-1-ol – Butan-2-ol	1 : 1
10	Butan-1-ol – Butan-2-ol – Propan-2-ol	1 : 1 : 1
7	Butan-2-ol	-
1	Ethanol	-
2	Ethanol – Butan-1-ol	1 : 1
3	Ethanol – Butan-1-ol	1 : 2

Tab 4 Laufmittel der zweiten vergleichenden DC

Abb 80 DC-Platte in Trennkammer

Die mobile Phase wird verschieden variiert, damit die Auftrennung des Blattextrakts der Stevia rebaudiana möglichst eindeutig wird.

Beobachtungen und Auswertung:

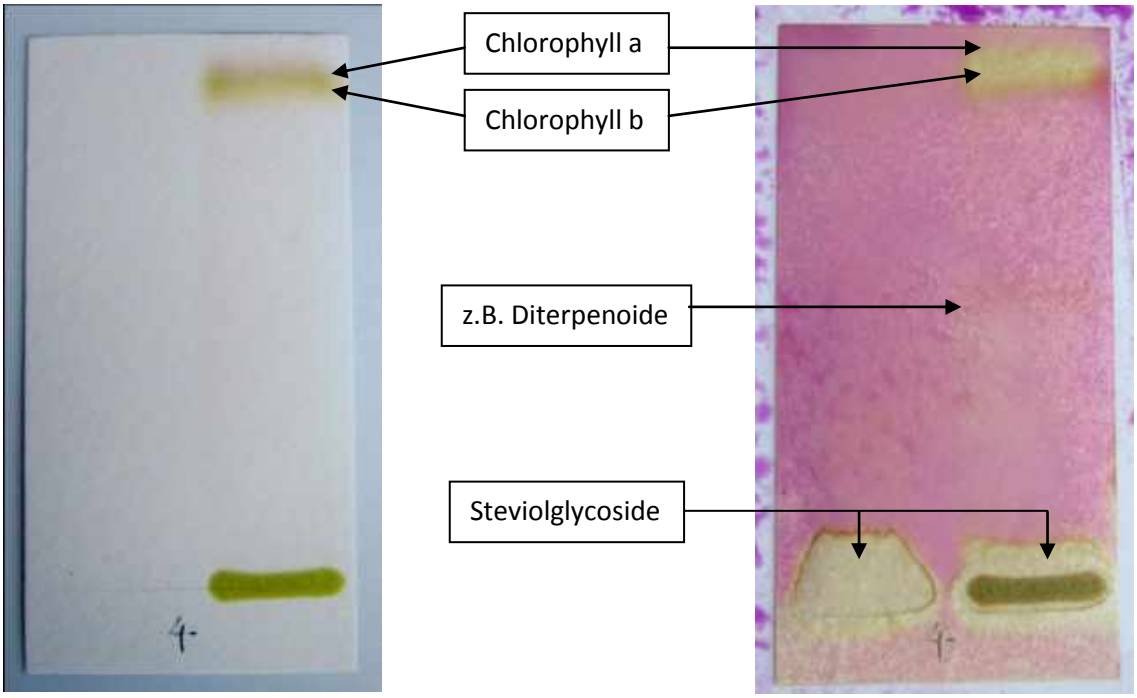


Abb 81 DC-Platten mit aufgetrennten Blattbestandteilen (Laufmittel Butan-1-ol)

Die konzentrierten Lösungen von Blattextrakt (rechts auf den Trägerplatten) und Steviosid-Pulver (links) wiederholen die Versuchsergebnisse der vorhergehenden Dünnschichtchromatographie. Alle zehn verwendeten Laufmittel(-mischungen) führen zu diesem Ergebnis (vgl. Anhang zu 3.1.2.2.3, S.144).

eindeutige Identifikation

- Chlorophyll a und b: Adsorption am oberen Teil der DC-Platte aufgrund geringerer Polarität
- Steviolglycoside: Adsorption am unteren Teil der DC-Platte aufgrund hoher Polarität

weitere hypothetische Bestandteile

- deutlich abgrenzbare Gruppe an Verbindungen aus den Blättern → ähnliche Beschaffenheit/Struktur/Polarität der Stoffe
- nicht im Steviosid-Pulver enthalten → keine Steviolglycoside
- farblos (ohne Anfärben nicht identifizierbar) → keine Verbindungen mit ausgeprägter Elektronendelokalisation (z.B. keine Flavonoide)
- Adsorption in Mitte bzw. oberen Teil der DC-Platte: geringere Polarität als Steviolglycoside, höhere Polarität als Chlorophylle → Vermutung: Terpen-Derivate (z.B. Diterpenoide mit Labdan-Grundgerüst) oder Steroide als häufige organische Bestandteile

genauere Betrachtung der Steviolglycosid-Bande

Die Adsorption der Steviolglycoside an die polare Beschichtung der Trägerplatten hängt aufgrund desselben Grundgerüsts (Steviol) ausschlaggebend von den gebundenen Saccharid-Molekülen ab (s. Abb 82).

Abb 82 Polarität der Steviolglycoside aufgrund der gebundenen Zucker

Die Einteilung der Steviolglycoside lässt sich in hypothetischer Form für die mittels der Dünnschichtchromatographie aufgetrennten Verbindungen anwenden.

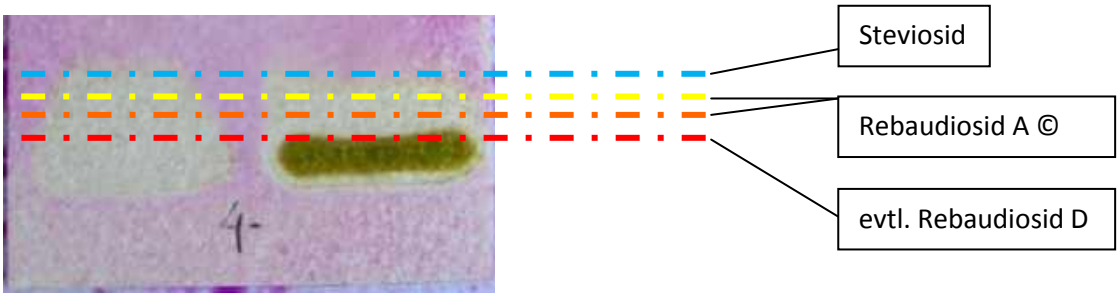


Abb 83 Analyse der aufgetrennten Steviolglycoside

Das zum Vergleich verwendete Steviolglycosid-Pulver sei, nach Herstellerangaben, zu 95% rein. Von den enthaltenen Süßstoffen mache Rebaudiosid A 25% aus. Daraus lässt sich für die Zusammensetzung der Steviolglycoside in den geernteten Blättern vermuten:

- Mischung der sechs (bzw. acht) verschiedenen Steviolglycoside: Steviosid, Rebaudiosid A bis E (F), Dulcosid A, (Rubusosid)

- Steviosid und/oder Dulcosid A in den Blättern in vergleichbarem oder etwas geringerem Anteil als im Süßstoff-Pulver (oberer Bereich der Blatt-Extrakt-Bande weniger intensiv)
- geringerer Anteil an am stärksten polaren Steviolglycosiden (trapezförmige Auftrennung beim Steviosid-Pulver ⇔ rechteckige Fläche beim Blatt-Extrakt)
  → geringerer Gehalt an Rebaudiosid A in Blättern

→ käuflicher Süßstoff aus gezüchteten Pflanzen mit höherem Steviosid- und Rebaudiosid-A-Anteil bzw. Qualitätsverbesserung durch gezielte Mischung verschiedener Steviolglycoside

Eine exakte, qualitative und quantitative Analyse der in den Blättern der Stevia rebaudiana enthaltenen Süßstoffe erfordert weitere Hilfsmittel, die über die Rahmenbedingungen der durchgeführten Seminararbeit hinaus gehen (z.B. Analyse mittels HPLC).

Hinsichtlich der qualitativen Bestimmung wichtiger enthaltener, organischer Stoffe, darunter vor allem die Steviolglycoside, stellt die in mehreren Schritten durchgeführte Dünnschichtchromatographie eine effiziente Analysemethode dar. Ausgehend von den Erkenntnissen über die Wahl eines polaren Laufmittels in Kombination mit einer stark polaren Trägerplatte könnten die Trennung der Blattbestandteile der Stevia rebaudiana auch für die Gewinnung der Süßstoffe genutzt werden. Unter Verwendung größerer DC-Platten (oder Chromatographie-Säulen) ließe sich die Stoffgruppe der Diterpenglycoside von weiteren Bestandteilen abgrenzen und schließlich durch Extraktion von der stationären Phase rückgewinnen.

Inwiefern dieses Verfahren für die Gewinnung der Steviolglycoside aus der Stevia rebaudiana zur Nutzung als Süßstoff für Lebensmittel genutzt wird, soll im Anschluss erörtert werden.

3.2 Methoden der Steviolglycosid-Gewinnung

Ähnlich dem Anbau und der Kultur des paraguayischen Süßkrauts lassen sich auch zur Gewinnung der süßen Blattbestandteile zahlreiche Verfahren und Wege aufzählen, aus welchen Stevia-Süßungsmittel in verschiedener Form hervorgehen. In einem kurzen Abriss sollen ausgewählte traditionelle und moderne Gewinnungsmethoden vorgestellt werden, welche je nach Umsetzbarkeit in der Praxis angewendet werden.

3.2.1 Eine Auswahl traditioneller und moderner Verfahren

Die verschiedenen Methoden der Gewinnung der süßen Inhaltsstoffe aus dem Honigkraut unterscheiden sich signifikant hinsichtlich des Reinheitsanspruchs an die jeweiligen Produkte. So entscheidet sich, ob das paraguayische Süßungsmittel ein Naturprodukt oder das Ergebnis moderner Chemielabore ist.

Als ursprüngliches Verfahren, die süßen Bestandteile der Stevia rebaudiana zu nutzen, gilt die Verwendung in Form von Tee oder das Kauen von Blättern und Pflanzenteilen. Beinahe stereotypisch wird deshalb in die Heimat des Süßblatts die Herkunft der traditionellen Gewinnung der Süße aus den Blättern gelegt. Aufgrund der hohen Polarität der Diterpenglycoside sind sie leicht in Wasser löslich und haben schon über Generationen hinweg als Süßungsmittel für Matetee in Südamerika genutzt werden können. Dieses recht einfache Verfahren beinhaltet, dass neben den gewünschten Steviolglycosiden zahlreiche hydrophile Verbindungen aus den Blättern gelöst werden. Durch Auskochen von frischen oder getrockneten Blättern und anschließende Abtrennung der Pflanzenteile (z.B. durch Filtration) lässt sich relativ rasch eine grüne Lösung herstellen, welche zu einem schwarz-grünen Sirup eingedickt werden kann. Da dieses Verfahren keinen reinen Süßstoff hervorbringt, hat die kommerzielle Extraktion komplexere Wege gefunden (nach Lit1, S.105; Int3).

Abb 84 Tee aus Stevia Blättern

Den unterschiedlichen Extraktionsprozessen kann ein gemeinsames Schema zugrunde gelegt werden (s. Abb 85), welches zunächst die Extraktion der Steviolglycoside in wässriger Lösung oder polaren organischen Lösungsmitteln (z.B. Ethanol) vorsieht. Die Reinigung von unerwünschten Verbindungen geschieht in Form der Fällung (z.B. durch Zugabe von Aluminium-/Calciumhydroxid). Durch die Bildung unlöslicher Salze können störende Stoffe durch anschließende Filtration (Ultra- bzw. Nano-Filtration) oder Ionenaustauscher entfernt werden. Die gängigste Entfärbungsmethode verläuft über die Harzadsorption verschiedener Stoffe. Zur Rückgewinnung eines gereinigten

Extraktes werden verschiedene Alkohole (v.a. Methanol/Ethanol) eingesetzt, unter deren Einwirkung die süßen Inhaltsstoffe kristallisieren. Durch eine anschließende Trocknung kann das „Naturprodukt“ aus dem Chemielabor als kristalliner Feststoff weiterverarbeitet werden (nach Lit1, S.37; Int3, Int5, Int22, Int32, Int33).

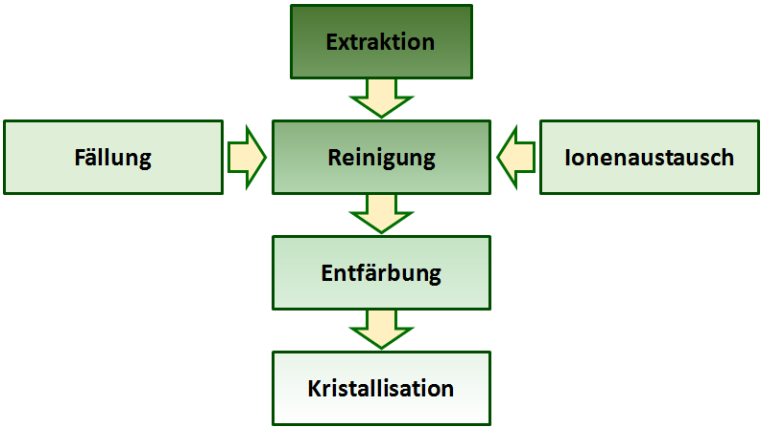


Abb 85 Schema der Extraktionsschritte

Eine alternative Lösung bietet die Extraktion mittels überkritischen Kohlenstoffdioxids (engl. *super critical fluid extraction, SCFE*). Aus zerstoßenen Blättern werden die Inhaltsstoffe ähnlich der Extraktion von Kaffee oder Tee auf effiziente Weise ausgelöst. Die Produkte sollen hierbei eine höhere Qualität als bei herkömmlichen Extraktionsverfahren aufweisen (nach Int3, Int34).

Da jedoch die kommerziellen Reinigungsverfahren sehr aufwendig sind, können die Steviolglycoside in reiner Form nur unter Zuhilfenahme entsprechender Geräte und Technologien gewonnen werden. Die Extraktion der Reinstoffe aus der Stevia rebaudiana ist deshalb für die private Nutzung des Honigkrauts nicht realisierbar – oder doch?

Der allgemeinen und abstrakten Besprechung der Extraktionsschemata für Steviolglycoside soll in der Praxis eine Konkretisierung folgen. Dabei wird die Machbarkeit der Süßstoffgewinnung aus eigenem Anbau überprüft.

3.2.2 Extraktion der Steviolglycoside aus pflanzlichem Material

Auf Basis der Dünnschichtchromatographie, mit welcher das Vorliegen an Steviolglycosiden in den Pflanzen aus eigenem Anbau bestätigt worden ist, sollen die Süßstoffe nun aus frischen und getrockneten Blättern extrahiert werden. Dabei wird der hydrophile Charakter der Diterpenglycoside ausgenutzt.

3.2.2.1 Auskochen mit Wasser

Die einfachste Methode, die Inhaltsstoffe der Blätter in Form einer Lösung zu gewinnen, stellt die Extraktion mit Wasser dar.

Materialien und Geräte: Uhrglas, Spatel, Waage, 2 Bechergläser, Glasstab, Vierfuß mit Ceranplatte, Bunsenbrenner, Thermometer, Trichter, Filterpapier, Eindampfschale, Messzylinder

Chemikalien: Wasser (deionisiert), Stevia-Blattpulver [SteviaSweet]

Sicherheitshinweis: Durchführung unter Beachtung der Sicherheitsbestimmungen für den Unterricht (gemäß R-/S-Sätze)

Aufbau und Durchführung:

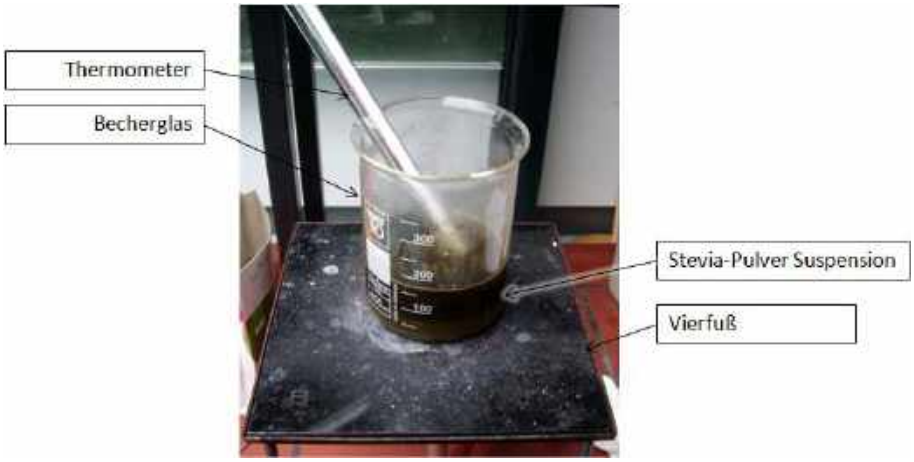


Abb 86 Wichtige Materialien beim Auskochen

(1) In einem Uhrglas werden ca. zehn Gramm getrocknet-pulverisierte Stevia-Blätter abgewogen und in ein Becherglas gegeben.

(2) Nach Zugabe von 150mL Wasser wird die Suspension über 20 min bis auf 90°C erhitzt, damit die Blattinhaltsstoffe austreten können.

(3) Die leicht abgekühlte Suspension (ca. 60°C) wird durch Filtration aufgetrennt und das Filtrat in einem Becherglas aufgefangen.

(4) Die Lösung kann durch Erhitzen in der Eindampfschale eingedickt und zu einem Feststoff kristallisiert werden.

Beobachtungen und Auswertung:

während des Auskochens von Stevia-Blattpulver

- Verfärbung des Lösungsmittels (farblos nach grün/oliv-braun)
  → Lösung hydrophiler Verbindungen aus den Blättern, darunter Chlorophyll und teilweise Umwandlung und Zersetzung enthaltener Stoffe durch hohe Temperaturen (90-100°C)
- Geruch nach „Kräutertee“
  → Verdampfung von leicht flüchtigen Geruchsstoffen aufgrund von Wärmezufuhr (durch Wasser aus den Blättern gelöst)
- Rückgewinnung eines oliv-braunen Filtrats

beim Eindampfen

- Verfärbung des Extrakts beim Erhitzen: oliv-braun nach braun
  → Konzentration des Extrakts durch verdampfendes Wasser: dunklere Färbung
  → weitere Zersetzung enthaltener Stoffe durch Erhitzen
- brauner, harter Feststoff mit kristalliner Struktur
  → Kristallisation eines Gemisches unterschiedlicher Verbindungen mit hohen zwischenmolekularen Kräften: optisch homogenes Molekülgitter

Abb 87 Eindampfen des Stevia-Extrakts

Abb 88 Stevia-Extrakt: links Sirup, rechts Pulver

Neben den hohen Zwischenmolekularen Kräften kann auch die Verknüpfung enthaltener Verbindungen als Ursache für die Härte des enthaltenen Extrakts vermutet werden. Etwa in Form einer Ester-Kondensation enthaltener Carbonsäuren mit Steviolglycosiden oder die glycosidische Bindung der Süßstoffe untereinander könnten polymerisierte Stoffe entstehen.

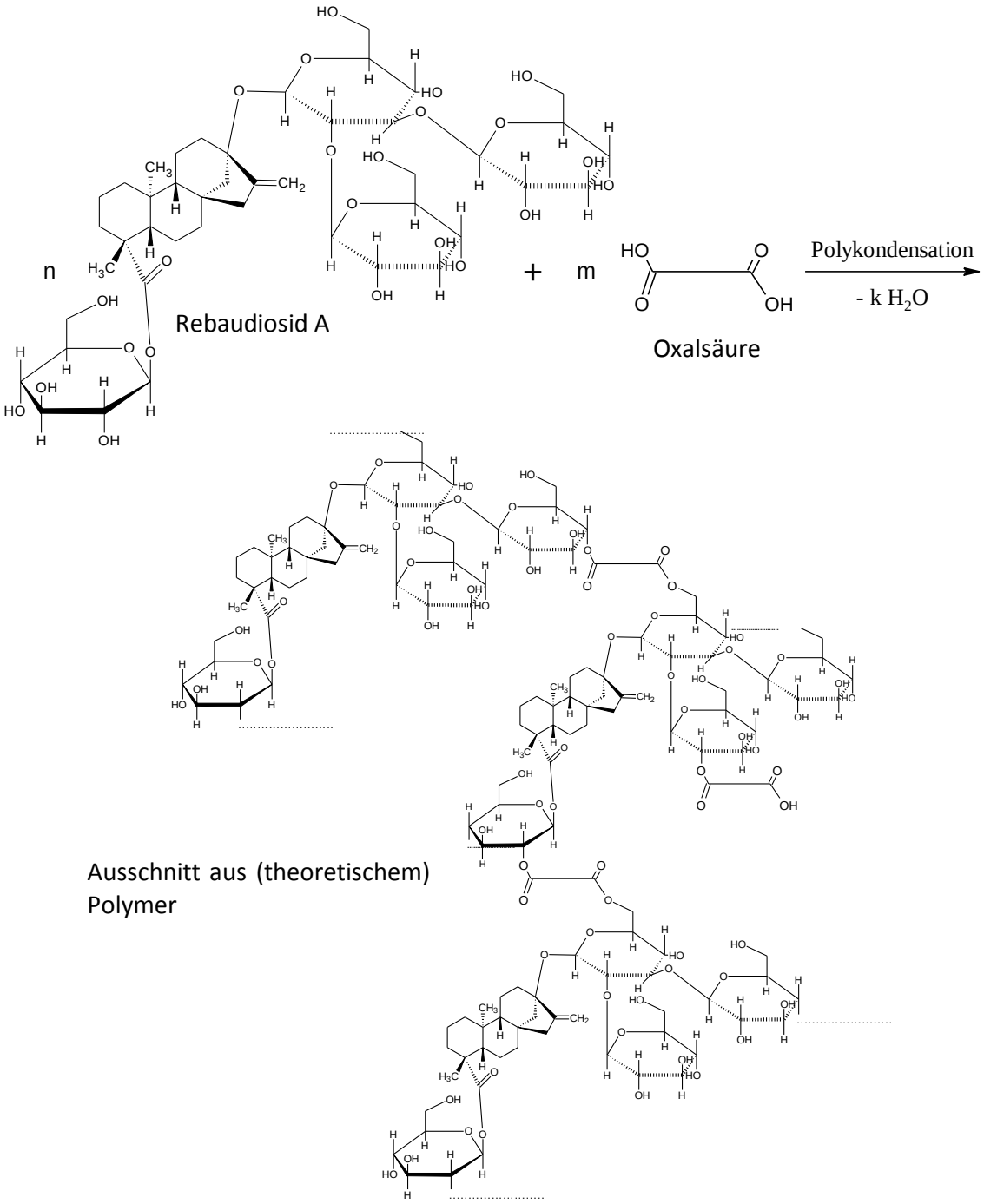


Abb 89 (Theoretische) Polymerisation beim Erhitzen

Die tatsächlichen Vorgänge beim Eindampfen des Stevia-Blatt-Extrakts umfassen zahlreiche komplexe Schritte, zu deren Aufklärung präzise Messungen und Analysemethoden nötig wären.

Dennoch weißt der erhaltene Extrakt einen deutlich süßen bis lakritzartigen Geschmack auf, was auf nicht gebundene Steviolglycoside hindeutet. Insofern lässt sich durch das Auskochen der Stevia-Blätter ein Rohextrakt gewinnen, welcher in eingedampfter oder flüssiger Form verwendet werden kann. Durch das Erhitzen entstehen jedoch zum Teil unerwünschte und eventuell auch ungesunde Abbauprodukte der pflanzlichen Stoffe.

Ein Rohextrakt mit dem Lösungsmittel Wasser ließe sich auf schonendere Weise durch einmalige Zugabe von siedendem Wasser zu zerkleinerten Stevia-Blättern oder Stevia-Pulver und anschließende Filtration gewinnen. Der Nachteil dieser Methode ist, dass nur ein geringer Anteil der Steviolglycoside ausgelöst wird. Mit Hilfe von Alkohol kann ganz ohne Erhitzen ein haltbarer Rohextrakt gewonnen werden.

3.2.2.2 Extraktion mit Ethanol

Prinzipiell könnten die Blätter des Honigkrauts auch mit Wasser ohne Erhitzen ausgewaschen werden, allerdings wäre der resultierende Extrakt wenig haltbar und anfällig für Schimmelbefall. In diesem Fall eignen sich verschiedene Alkohole, welche antimikrobiell wirken. Da auch bei verschiedenen Medikamenten Ethanol als Lösungsmittel verwendet wird, wird die kalte Extraktion des Süßkrauts mit diesem Alkohol durchgeführt.

Materialien und Geräte: Moulinex und/oder Schnellmixstab, Trichter, Filterpapier, Becherglas, Schüssel

Chemikalien: Ethanol, Stevia-Blätter [frisch]

Sicherheitshinweis: Durchführung unter Beachtung der Sicherheitsbestimmungen für den Unterricht (gemäß R-/S-Sätze)

Aufbau und Durchführung:

Abb 90 Aufbau zur Herstellung eines Rohextrakts auf Ethanol-Basis

(1) Die gesäuberten Stevia-Blätter werden in der Moulinex (oder mit dem Schnellmixstab) zerkleinert, damit möglichst viele Inhaltsstoffe ausgelöst werden.

(2) Unter Zugabe von etwa 100 mL Ethanol werden die Blätter weiter zerkleinert bzw. püriert und die Blattbestandteile extrahiert (≈ Mazeration).

(3) Durch Filtration wird die alkoholische Lösung von den Pflanzenresten getrennt.

Der Rohextrakt ist aufgrund des zugesetzten Alkohols haltbar und kann zum Süßen von Lebensmitteln verwendet werden.

Beobachtungen und Auswertung:

- grüne Suspension vor der Filtration
  → Lösung von Chlorophyll im polaren Lösungsmittel
- grüne, stark süße, klebrige Lösung
  → Extraktion von Steviolglycosiden
  → Klebrigkeit aufgrund von starken Kräften zwischen den Süßstoffmolekülen (Wasserstoff-Brücken)

Abb 91 alkoholischer Rohextrakt aus Stevia-Blättern

Die bei niedrigen Temperaturen durchgeführte Extraktion führt zu einem Steviolglycosid-haltigen Rohextrakt, dessen Inhaltsstoffe rein optisch nicht zersetzt werden (keine Bräunung).

Es ist jedoch anzunehmen, dass ein hoher Anteil der Süßstoffe durch die Sättigung der Lösung nicht mehr ausgelöst werden kann. Um die Ausbeute der Süßstoffe aus den Blättern zu erhöhen, könnte als Mittelweg zwischen dem Auskochen und der Extraktion mit einem kalten Lösungsmittel das Soxhlet-Verfahrens durchgeführt werden. Damit die pflanzlichen Stoffe nicht denaturiert werden, sollte das Lösungsmittel nur mäßig erhitzt werden (s. Abb 92).

Abb 92 Soxhlet-Extraktion mit Stevia-Blatt-Pulver und Ethanol

In der alkoholischen Lösung ist eine Vielzahl pflanzlicher Stoffe enthalten, welche den Geschmack des Extrakts beeinflussen. Ein besonderer Schwerpunkt weiterer Versuche soll deshalb die Reinigung des Rohextrakts darstellen.

3.2.3 Reinigung des Rohextrakts

Der selbst gewonnene Rohextrakt weist eine grün-braune Färbung auf, während käufliches Steviolglycosid-Pulver aus bis zu 95% reinen, farblosen Glycosiden des Steviols besteht. Zwar können die aufwendigen, komplizierten und teuren Reinigungsschritte der kommerziellen Süßstoffgewinnung aus dem Honigkraut im Rahmen der vorliegenden Seminararbeit nicht praktisch durchgeführt werden, alternativ lassen sich jedoch drei gängige Reinigungsverfahren pflanzlicher Extrakte anwenden.

3.2.3.1 Fällung unerwünschter Stoffe mit Kalkwasser

In Anlehnung an das Reinigungsverfahren bei der Gewinnung von Saccharose aus der Zuckerrübe wird für die wässrige Lösung der Blätter der Stevia rebaudiana die Fällung von Fremdstoffen mittels einer Calciumhydroxid-Lösung und anschließender Abtrennung des Niederschlags untersucht. Dieses Reinigungsverfahren entspricht somit dem theoretisch beschriebenen Extraktionsschema der Steviolglycoside.

Materialien: Bechergläser (2 x 250 mL, 500 mL), Vierfuß mit Ceranplatte, Trichter, Filterpapier, Bunsenbrenner, Glasstab, Messkolben, Waage, Petrischale, Spatel, pH-Meter (pH-Checker [Hanna]), Glaspipettenspitze, Schlauchstück, Nutsche, Filter, Saugflasche, Wasserstrahlpumpe

Chemikalien: Kohlenstoffdioxid, Calciumhydroxid, Stevia-Blätter [frisch]

Sicherheitshinweis: Durchführung unter Beachtung der Sicherheitsbestimmungen für den Unterricht (gemäß R-/S-Sätze)

Aufbau und Durchführung:

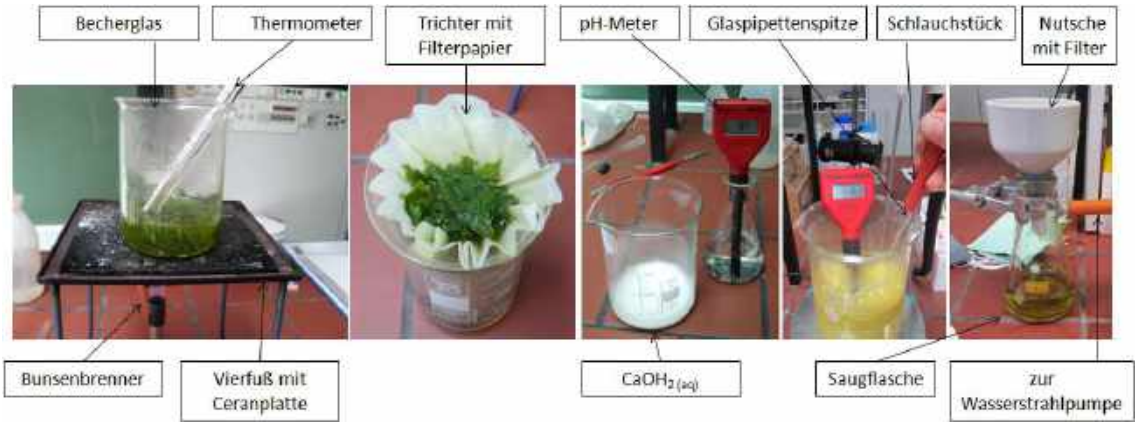


Abb 93 Reinigung des Stevia-Rohextrakts: Kalkfällung

(1) Gemäß der Vorgehensweise beim Auskochen der Stevia-Blätter werden die Blattbestandteile aus 20g frischer Stevia rebaudiana unter Zugabe von 150mL Wasser durch etwa halbstündiges Auskochen extrahiert und der Rohextrakt von den pflanzlichen Rückständen getrennt.

(2) Der Pflanzenextrakt wird auf der Ceranplatte eines Vierfußes unter ständigem Rühren (Glasstab) auf 50°C erwärmt. Mit einer Tropfpipette wird die hergestellte Kalkmilch (25g Calciumhydroxid im Messzylinder mit 100mL Wasser) so lange zugegeben, bis das installierte pH-Meter einen Wert von pH=11,8 anzeigt. Anschließend wird die Suspension für 15 min auf 75°C erhitzt.

(3) Nach dem Abkühlen auf 50°C, welches aufgrund der Temperaturbegrenzung des pH-Meters auf diese Temperatur notwendig ist, wird über ein dünnes Glasröhrchen (Spitze von Glaspipette) ein feiner Kohlenstoffdioxid-Strom eingeleitet. Hierbei soll die Suspension einen pH-Wert von pH=9 erreichen.

(4) Mit Hilfe von Nutsche, Filter, Saugflasche und Wasserstrahlpumpe wird der Extrakt von ausfallenden Schwebstoffen getrennt.

Das Filtrat wird zur Abkühlung beiseite gestellt und kann weiterverwendet werden.

Beobachtungen und Auswertung:

Herstellung des Rohextrakts

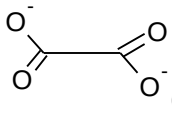
Die Beobachtungen entsprechen der Dokumentation des Auskochens der Stevia-Blätter/-Pulver (vgl. Abschnitt 3.2.2.1). Es liegt ein olivgrünes Filtrat mit charakteristischem „Stevia-Geruch“ vor.

Abb 94 Rohextrakt

Zugabe der Kalkmilch und Einleiten von CO_2

- Verfärbung des Rohextrakts (olivgrün nach gelbgrün-gelbbraun)
  → Aufhellung durch ungelösten Kalk ($CaCO_{3\,(s)}$)
  → Ausfällung enthaltener Stoffe: Niederschlag
- Bildung einer Suspension
  → $CaCO_{3\,(s)}$
  → Niederschlag unlöslicher Calciumsalze aus gelösten pflanzlichen Inhaltsstoffen (z.B. Calciumphosphat, Calciumoxalat)

$$3\,Ca^{2+}_{(aq)} + 2\,PO_4^{3-}{}_{(aq)} \longrightarrow Ca_3(PO_4)_{2\,(s)}$$

$Ca^{2+}_{(aq)}$ +  $_{(aq)}$ ⟶ $CaC_2O_{4\,(s)}$

→ Reinigung des Rohextraktes durch Ausfällung von Fremdstoffen

- weiterer Niederschlag bei der Einleitung von $CO_{2\,(g)}$
  → Ausfällung von Metallionen (v.a. Ca^{2+}-Ionen) in Form von Carbonaten (v.a. Calciumcarbonat $CaCO_3$)

Abb 95 ausfallender Niederschlag bei CO_2-Einleitung

Filtration und weitere Beobachtungen

Abb 96 olivgrüner Rückstand

Abb 97 gelbbraunes Filtrat

- gelbbraune, klare Lösung ⇔ olivgrün-grauer Rückstand
  → Ausfällung von Chlorophyll und weiterer pflanzlicher Stoffe
  → Abtrennung des Niederschlags
  → Filtrat mit nicht ausfällbaren Farbstoffen
- Verfärbung des Filtrats beim Auskühlen: gelbbraun nach dunkelbraun
  → Veränderung der Struktur der gelösten Farbstoffe (z.B. Oxidation an Luft, Zersetzung bzw. Umlagerung durch alkalisches Milieu in Folge von Deprotonierung)

Da als Produkt eine braune Lösung, bzw. ein brauner Feststoff nach dem Eindampfen, erhalten wird, wird auf eine zu wenig präzise Durchführung des Versuchs geschlossen.

Mögliche Fehlerquellen und Optimierung:

- Wärmezufuhr: stark schwankende Temperaturen (Bunsenbrenner)
  → Alternative: Heizplatte mit Kontaktthermometer
- Menge an Calciumhydroxid: geringe Abweichung vom empfohlenen pH-Wert bei der Kalkwasserzugabe
  → Kontrolle der zugegebenen Menge an $Ca(OH)_{2\,(aq)}$ beim zweiten Versuch
- Erhöhung des Teilchenkontakts durch Verwendung eines Magnetrührers

Die Wiederholung des Experiments mit demselben Ablauf der Durchführung unter Berücksichtigung der genannten Gesichtspunkte führt zu einem nahezu unveränderten Ergebnis. Bei Zugabe von Kalkmilch und dem Einleiten von CO_2 zum Blattextrakt bildet sich ein kräftiger Niederschlag, welcher abgetrennt werden kann. Als Produkt erhält man eine gelbe Lösung, die rasch braun wird.

Abb 98 zweiter Kalkfällungs-Versuch

Daraus lässt sich schließen, dass sich mit Hilfe der Reinigungsmethode von Zuckerrübenrohextrakt die Steviolglycoside nicht in reiner Form gewinnen lassen. Zwar wird der Rohextrakt der Stevia-Blätter sichtbar von Fremdstoffen gereinigt, aber es bleiben optisch störende Verbindungen zurück. Darüber hinaus kann angenommen werden, dass zumindest ein Teil der enthaltenen Steviolglycoside im während des Experiments vorliegenden alkalischen Milieu gespalten wird (vgl. Abschnitt 3.1.1.2).

Aus diesem Grund sollen zwei weitere Reinigungsverfahren zu einem besseren Ergebnis führen.

3.2.3.2 Adsorption von Fremdstoffen an Aktivkohle

Aufgrund der großen Oberfläche von Aktivkohle können durch zwischenmolekulare Wechselwirkung verschiedene Stoffe gebunden werden (Adsorption). Im Vergleich zur Kalkfällung handelt es sich hierbei um eine milde Reinigungsmethode, bei der die vorhandenen Verbindungen nicht zersetzt werden dürften (nach Int36).

Materialien: 2 Reagenzgläser, Reagenzglasständer, Mörser, Pistill

Chemikalien: Aktivkohle, alkoholischer Stevia-Blatt-Extrakt

Sicherheitshinweis: Durchführung unter Beachtung der Sicherheitsbestimmungen für den Unterricht (gemäß R-/S-Sätze)

Aufbau und Durchführung:

Abb 99 Aufbau zur Reinigung mit Aktivkohle

(1) Körnige Aktivkohle wird im Mörser zu einem groben Pulver zerrieben und etwa zwei Teelöffel davon in ein sauberes Reagenzglas gegeben.

(2) Ein nach dem beschriebenen Extraktionsverfahren mit Ethanol hergestellter alkoholischer Auszug der Blätter der Stevia rebaudiana wird in das Reagenzglas mit Aktivkohle gefüllt (ca. zwei Milliliter), mit Wasser verdünnt und kräftig geschüttelt. Im zweiten Reagenzglas wird Gleiches ohne Aktivkohle wiederholt.

Die Reagenzgläser werden bis zum Sedimentieren der Aktivkohle am Reagenzglasboden beobachtet und verglichen.

Beobachtungen und Auswertung:

- Trübung des Stevia-Extrakts durch Aktivkohlenpulver (Schwebstoffteilchen)
- olivgrüne Suspension nach Absetzen der Mehrheit des Aktivkohlepulvers am Reagenzglasboden
  → Trennung nach der Dichte der Verbindungen
  → keine Adsorption von Chlorophyll an die porösen Aktivkohlestückchen

Über das Adsorptionsvermögen der verwendeten Aktivkohle hinsichtlich anderer Verbindungen, welche in der Lösung nicht optisch erkannt werden können, kann keine Aussage getroffen werden (s. Abb 100). Zur Verifizierung, dass die Aktivkohle nicht durch anhaftende Stoffe (z.B. Gase der Luft) schon vor der Durchführung des Experiments verbraucht worden ist, wird das beschriebene Experiment anstelle von Stevia-Extrakt mit der wässrigen Lösung blauer Tinte wiederholt. Der blaue Tintenfarbstoff wird adsorbiert, sodass die fehlende Reinigung des alkoholischen Blattauszugs des Süßkrauts von den grünen Blattfarbstoffen nicht auf die fehlende Wirksamkeit des Kohlepulvers zurückzuführen ist.

Abb 100 Adsorption blauer Tinte: rechts mit Aktivkohle

Abb 101 Adsorption von Stevia-Extrakt: rechts mit Aktivkohle

Zwar kann es sich bei diesem Reinigungsverfahren um eine effektive Methode zum Entfernen nicht sichtbarer Fremdstoffe aus der Stevia-Blatt-Extrakt-Lösung handeln, ein auf sichtbarer Ebene reiner Süßstoff kann jedoch nicht hervorgehen. So wird über die Reinigung mit Aktivkohle das Ziel, ein möglichst sauberes Steviolglycosid-Gemisch zu erhalten, nicht erreicht.

In Ergänzung zu den bisherigen Verfahren wird abschließend eine mehrere Einzelschritte umfassende Methode angewendet und auf ihre Qualität überprüft.

3.2.3.3 Herkömmliches Extraktions- und Reinigungsverfahren

Bevor hocheffiziente Technologien entwickelt worden sind, um die Steviolglycoside aus den Blättern des Honigkrauts zu lösen, ist auf dieses Reinigungsverfahren durchaus zurückgegriffen worden. Es stellt sowohl eine schonende als auch ohne hochtechnische Hilfsmittel realisierbare Methode dar (Versuchsdurchführung nach Int3).

Materialien: Schüssel, Wasserkocher, 2 Trichter, 2 Filterpapier, Scheidetrichter, Gummistopfen, Messzylinder, Zentrifuge, 4 Zentrifugengläser, Heizplatte, Thermometer, 2 Becherglas, Eindampfschale

Chemikalien: Isobutanol (= 2-Methyl-propan-1-ol), Aktivkohle, Stevia-Blätter [frisch]

Sicherheitshinweis: Durchführung unter Beachtung der Sicherheitsbestimmungen für den Unterricht (gemäß R-/S-Sätze)

Aufbau und Durchführung:

Abb 102 Aufbau zur herkömmlichen Reinigungsmethode

(1) Im ersten Schritt werden zehn Gramm frische Stevia-Blätter mit 200 mL kochendem Wasser übergossen und eine Stunde bei Raumtemperatur ziehen gelassen.

(2) Der Ansatz wird filtriert und das Filtrat in einem Becherglas gesammelt.

(3) 100 mL des Extrakts werden zusammen mit 150 mL Isobutanol in einen Scheidetrichter gegeben und dieser mit einem Gummistopfen verschlossen. Durch kräftiges Schütteln werden die Flüssigkeiten zu einer Emulsion gemischt. Anschließend wird der Scheidetrichter senkrecht gestellt und die Entmischung abgewartet. Die untere Phase wird in ein Becherglas zur Entsorgung gegeben, die obere Phase in einem zweiten Becherglas zur Weiterverwendung gesammelt.

(4) Die aufbewahrte Flüssigkeit wird in Zentrifugengläser gefüllt und über einen Zeitraum von 15min bei 3000 U/min zentrifugiert. Anschließend wird die Lösung in ein Becherglas dekantiert.

(5) Der Extrakt wird auf 80°C erhitzt und durch eine Schicht aus Aktivkohle filtriert.

(6) Das Filtrat wird in einer Eindampfschale eingedickt, bis eine zähflüssige Masse vorliegt. Das Eindampfschälchen wird bei Raumtemperatur einige Tage bis zur Kristallisation offen stehen gelassen.

Beobachtungen und Auswertung:

Herstellung des Blattextrakts

grüner Extrakt aufgrund gelöster pflanzlicher Stoffe → Grünfärbung durch Chlorophyll

Stofftrennung im Scheidetrichter

- Phasentrennung von Wasser (unten; höhere Dichte) und iso-Butanol (oben; geringere Dichte)
  → unterschiedliche Polarität der Lösungsmittel: Butanol hydrophobe Tendenz
- Grünfärbung iso-Butanol-Phase ⇔ Braunfärbung Wasser-Phase
  → Auftrennung im Wasserextrakt gelöster Verbindungen

iso-Butanol-Phase:
→ weniger hydrophile Verbindungen
→ teilweise Chlorophyll (v.a. Chlorophyll a)
→ Lösung von Steviolglycosiden aufgrund unpolaren Steviol-Gerüsts
→ Trübung: Emulsion
→ höhere Viskosität (Molekülgröße von Isobutanol)

Wasser-Phase
→ stark polare, hydrophile Verbindungen
→ Salze und anorganische Stoffe
→ geringe Viskosität (Kleinmoleküle)

Abb 103 Phasenbildung im Scheidetrichter

Zentrifugieren

Trennung der iso-Butanol-Phase (Emulsion) nach Dichte und Polarität der enthaltenen Stoffe

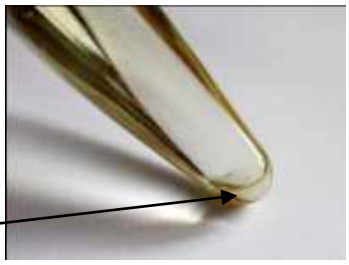


Abb 104 Auftrennung der iso-Butanol-Phase

- gelblich-durchsichtige Flüssigkeit am Zentrifugenglasboden
  → höhere Dichte als Isobutanol
  → evtl. Reste wässriger Lösung von Blattextrakten
- hellgrüne obere Phase des Isobutanol-Extrakts

Erhitzen der iso-Butanol-Lösung und Reinigung mit Aktivkohle

- Bildung von Schlieren im Becherglas ab 35°C
  → geringere Dichte erhitzten iso-Butanols → sichtbarer Auftrieb
- keine optische Veränderung des Extrakt bei der Filtration durch Aktivkohle

Eindampfen

- zähflüssige, hellgrüne Substanz
  → sinkender Anteil des verdampfenden Lösungsmittels
- gelb-grüner Feststoff am Boden der Eindampfschale, weiße salzartige Verbindung(en) am Rand des Schälchens
  → Steviolglycoside mit wenigen Verunreinigungen (Chlorophyll und Zersetzungsprodukte durch Erhitzen)

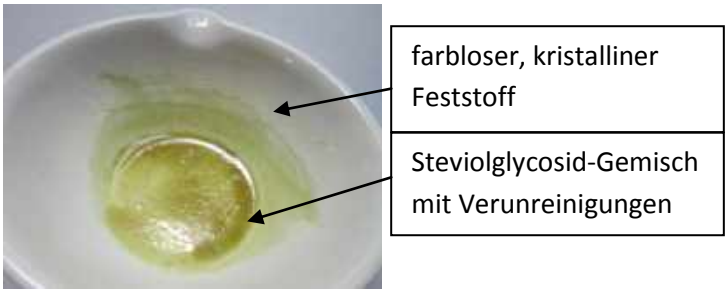


Abb 105 Steviolglycosid-Gemisch in Eindampfschale

Abb 106 Süßstoff-Pulver

Das Produkt besitzt eine kristalline Struktur, welche zwar unter dem Mikroskop nur geringe Ähnlichkeit mit reinem, weißen Steviolglycoside-Pulver aufweist, aber auf makroskopischer Ebene dem Süßstoffpulver vergleichbar ist (s. Abschnitt 3.1.2.1). Die gelb-grünliche Färbung deutet auf einen nicht vernachlässigbaren Anteil weiterer pflanzlicher Verbindungen und deren Zersetzungsprodukte hin.

Jedenfalls ist das Extrakt-Pulver der Blätter des Honigkrauts stark süß, was auf die Diterpenglycoside hindeutet. Hinsichtlich der Verwendung des erhaltenen Extrakts zur Süßung von Nahrungsmittel muss jedoch auf die toxischen Wirkungen von iso-Butanol

verwiesen werden, welches zumindest noch in Spuren im Extrakt enthalten ist. So ist zwar das erhaltene Steviolglycosid-Pulver nicht für den Verzehr geeignet, die Machbarkeit der Extraktion der Süßstoffe mit einfachen Mitteln in höherer Reinheit wird aber bestätigt.

In der Folge kann die zu Beginn dieses Kapitels aufgeworfene Frage nach der Umsetzbarkeit der Gewinnung der süßen Reinstoffe aus den Blättern der Stevia rebaudiana beantwortet werden. In dem Maß reine Steviolglycoside, wie sie käuflich erwerblich sind, können ohne entsprechende Technologien nicht gewonnen werden. Die Süßstoffe lassen sich jedoch von einer großen Menge weiterer pflanzlicher Stoffe abtrennen und abgrenzen. Ausgehend von der Extraktion der süßen Inhaltsstoffe aus 50 Gramm frischer Blätter ließe sich die Gewinnung der Süßstoffe auf größere Mengen ausweiten und nach einer entsprechenden Reinigung von iso-Butanol-Rückständen (z.B. durch Auswaschung mit Ethanol oder DC) zur Süßung verwenden.

Inwiefern die sechs Glycoside der 13-Hydroxy-ent-Kaur-16-en-19-säure für die Anwendung in verschiedenen Lebensmitteln geeignet sind, soll die Betrachtung der Stabilität der Verbindungen offen legen.

3.3 Stabilität der Steviolglycoside

Die Grundlage für die Bewertung der Stabilität der Diterpenglycoside in Theorie und Praxis ist bereits bei der Vorstellung der Verbindungen Steviosid und Rebaudiosid A gelegt worden (vgl. Abschnitt 3.1.1.2). Nach einem kurzen Überblick über die (nicht) eintretende Veränderung unter verschiedenen Bedingungen wird die Stabilität der Steviolglycoside praktisch überprüft.

3.3.1 Diterpenglycoside unter dem Einfluss verschiedener Bedingungen

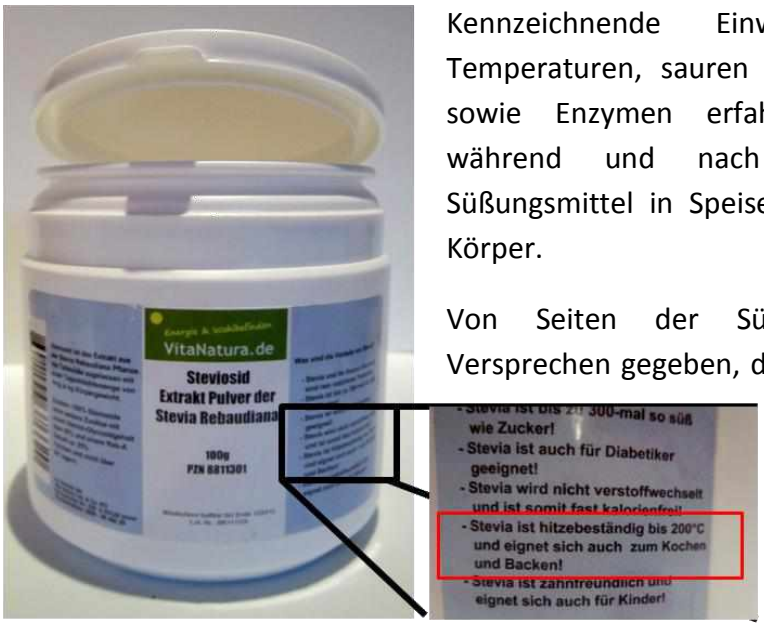


Abb 107 Hitzebeständigkeit von Steviolglycosiden?

Kennzeichnende Einwirkungen von hohen Temperaturen, sauren oder alkalischen Lösungen sowie Enzymen erfahren die Steviolglycoside während und nach der Verwendung als Süßungsmittel in Speisen und Getränken bzw. im Körper.

Von Seiten der Süßstoffanbieter wird das Versprechen gegeben, die Steviolglycoside seien bis zu einer Temperatur von 200°C hitzestabil und könnten somit ohne Bedenken zur Zubereitung von Speisen verwendet werden. Diese Angabe scheint sich auf den Schmelzbereich der Steviolglycoside von 198 bis 202°C zu beziehen. Werden die Steviolglycoside in neutraler, wässriger Lösung auf den Siedepunkt von Wasser über mehrere Stunden erhitzt, so wird jedoch die C-19-Esterbindung zwischen dem Steviol und den Zuckerresten gespalten. Genauer kann dies anhand von Steviosid, welches nach mindestens vier Stunden erhitzen zu Steviolbiosid und D-Glucose gespalten wird, und Rebaudiosid A, Spaltung zu Rebaudiosid B und D-Glucose, betrachtet werden (nach Lit4, S. 4309; Int3).

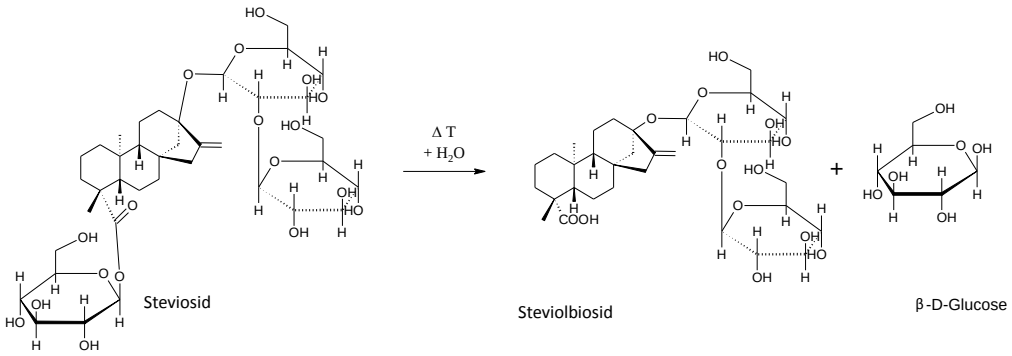


Abb 108 Zersetzung von Steviosid in erhitzter, wässriger Lösung

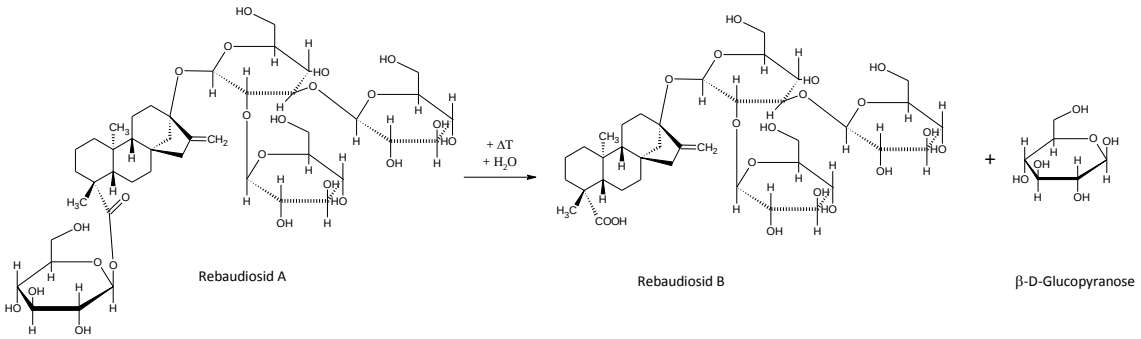


Abb 109 Zersetzung von Rebaudiosid A in erhitzter, wässriger Lösung

Ob sich die Steviolglycoside deshalb für die Verwendung als Süßungsmitteln in verschiedenen Speisen eignen, erscheint fragwürdig. Aus der Beobachtung der Zersetzung von Steviosid beim Erhitzen über eine Stunde unter verschiedenen Temperaturen geht ebenfalls hervor, dass die Süßstoffe zwar in dem angegebenen Zeitraum bis 120°C relativ stabil sind, ab 140°C verstärkt und bis 200°C vollständig zersetzt werden (s. Abb 108). So muss anstelle von dem tatsächlichen Schmelzbereich um 200°C von einem theoretischen Wert ausgegangen werden. Da die zwischenmolekularen Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Süßstoffen aufgrund der gebundenen Zucker zu stark sind, können sie beim Erhitzen kaum überwunden werden, sodass die Moleküle aufgrund der hohen Teilchenbewegung „zerbrechen“. Inwieweit dies allerdings geschmackliche und/oder gesundheitliche Konsequenzen bei der Verwendung besitzt, soll an dieser Stelle nicht behandelt werden.

Gegenüber sauren bzw. alkalischen Milieus sind die Diterpenglycoside relativ stabil (Bereich pH=2-10), da die dreidimensionale Struktur vor saurer Hydrolyse schützt. So werden beim Erhitzen saurer/alkalischer Steviolglycosid-Lösungen bis 60°C die Verbindungen kaum verändert, bis 80°C tritt eine leichte Zersetzung auf. Im stark Sauren (pH=1) werden die Süßstoffe bis 80°C vollständig zersetzt. Steviosid und Rebaudiosid A werden dabei zu Isosteviol abgebaut. Gegenüber stark alkalischen Lösungen reagieren die Süßstoffe ebenso mit hydrolytischer Abspaltung der Glucose-Moleküle, von der vor allem die Esterbindung an C-19 betroffen ist (vgl. Abschnitt 3.1.1.2). Für die Verwendung der Süßstoffe in Lebensmitteln, deren pH-Wert vom Neutralen abweicht, können sich daraus Einschränkungen ergeben (nach Int3, Int8).

Die Steviolglycoside lassen sich über Einwirkung verschiedener Enzyme auf das Aglycon Steviol bzw. verschiedene Metabolite zurückführen. Nennenswert sind hierbei die enzymatische Zersetzung mittels Diastase (=Amylase), β-Glucosidase und Hesperidinase (vgl. Abschnitt 3.1.1.2) (nach Lit4, S. 4309; Int3, Int13).

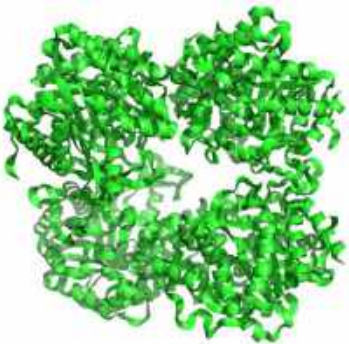


Abb 110 β-Glucosidase

3.3.2 Empfindlichkeit gegenüber hohen Temperaturen, sauren und alkalischen Lösungen und Enzymen

Die Beständigkeit der süßen Verbindungen ist besonders deshalb interessant, da bei der Verwendung als Süßstoff in Lebensmitteln verschiedene Faktoren auf die Moleküle einwirken. Kennzeichnend sind eben das Erhitzen (z.B. beim Backen von Kuchen), der Kontakt zu sauren Lösungen (z.B. Erfrischungsgetränken, Limonaden, Magensäure) sowie der Abbau der Steviolglycoside im Körper durch Enzyme.

Das Erhitzen von Steviolglycosid-Pulver, dessen Zugabe in saure bzw. alkalische Lösungen und Zugabe eines Enzyms zu einer wässrigen Süßstofflösung soll die Theorie zur Stabilität der Steviolglycoside praktisch ergänzen.

3.3.2.1 Kochen wässriger Steviolglycosid-Lösung

Materialien und Geräte: Löffel, Kochtopf, Thermometer, Herdplatte, Glucoseoxidase (=GOD-)-Teststreifen, Reagenzglasständer, Reagenzgläser, Uhr

Chemikalien: Wasser (Leitungswasser), Steviosid-Pulver [95%; VitaNatura.de]

Sicherheitshinweis: Durchführung unter Beachtung der Sicherheitsbestimmungen für den Unterricht (gemäß R-/S-Sätze)

Aufbau und Durchführung:

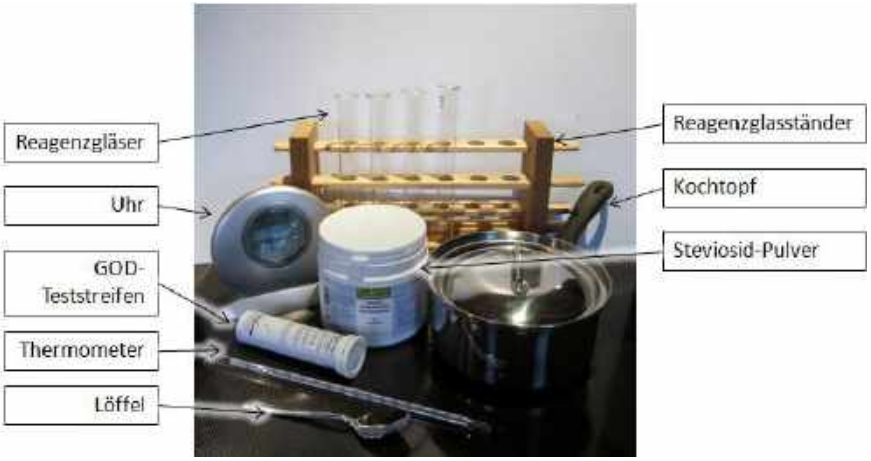


Abb 111 Aufbau zum Stabilitätstest: Temperatur

(1) Aus Steviolglycosid-Pulver wird eine wässrige Lösung hergestellt. Vor der eigentlichen Versuchsdurchführung wird diese mit Hilfe eines GOD-Tests auf freie Glucose-Moleküle getestet. Der Teststreifen wird hierzu für eine Sekunde in die Flüssigkeit getaucht und 30 bis 60 Sekunden danach eine eventuelle Verfärbung mit der Legende auf der GOD-Test-Verpackung abgeglichen.

(2) Die Süßstoff-Lösung wird in einem Becherglas über 60 Minuten gekocht. Alle zehn Minuten wird eine Probe entnommen und diese nach kurzem Abkühlen mit einem GOD-Teststreifen erneut untersucht.

Aus den theoretischen Kenntnissen lässt sich die Vermutung formulieren, dass durch die Wärmezufuhr zu den in Wasser gelösten Steviolglycosiden die Esterbindung zwischen Steviol und den Zuckermolekülen von β-D-Glucose bzw. α-L-Rhamnose bei einem Teil der in der Lösung enthaltenen Verbindungen gespalten wird. Der GOD-Test müsste so ein positives Ergebnis in Form eines Farbumschlags anzeigen.

Beobachtungen und Auswertung:

- vor dem Erhitzen: GOD-Test gelb
  → negativer Test → keine freien Glucose-Moleküle in wässriger Steviolglycosid-Lösung
- beim Erhitzen: GOD-Test hellgrün bis mittelgrün

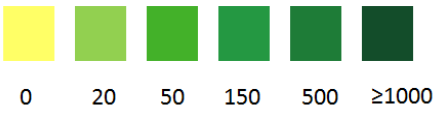


Abb 112 Legende GOD-Test (Angaben für Glucose in mg/dL)

Dauer des Kochens [min]	Farbe des GOD-Tests	Testergebnis	Zersetzung?
0	gelb	negativ	nein
10	hellgrün	positiv	ja
20	hellgrün-grün	positiv	ja
30	hellgrün-grün	positiv	ja
40	hellgrün-grün	positiv	ja
50	hellgrün-grün	positiv	ja
60	hellgrün-grün	positiv	ja

Tab 5 Beobachtungen beim Erhitzen

→ positiver Test → Hydrolyse der Esterbindung der Steviolglycoside an C-19 unter Freisetzung von Glucose-Molekülen (→ Färbung GOD-Test)

Bsp. Steviosid + H_2O ⟶ Steviolbiosid + β-D-Glucose (vgl. Abb 108)

In welchem Ausmaß die Süßstoffe hydrolytisch gespalten werden (zersetzte Verbindungen im Verhältnis zu nicht gespaltenen Molekülen) geht aus diesem Experiment nicht hervor. Festzuhalten ist hingegen, dass die Vermutung bezüglich der Spaltung der Steviolglycoside bestätigt wird. Für das Kochen von Süßspeisen könnten sich daraus Einschränkungen ergeben.

3.3.2.2 Einfluss des pH-Werts

Materialien und Geräte: pH-Meter (pH-Checker von Hanna), Tropfpipetten, 15 Glasfläschchen, Becherglas/Plastikschälchen, GOD-Test

Chemikalien: Wasser (Leitungswasser), Salzsäure c ($HCl_{(aq)}$)=1,0 $\frac{mol}{L}$, Natronlauge c ($NaOH_{(aq)}$)=1,0 $\frac{mol}{L}$, Steviosid-Pulver [95%; VitaNatura.de]

Sicherheitshinweis: Durchführung unter Beachtung der Sicherheitsbestimmungen für den Unterricht (gemäß R-/S-Sätze)

Aufbau und Durchführung:

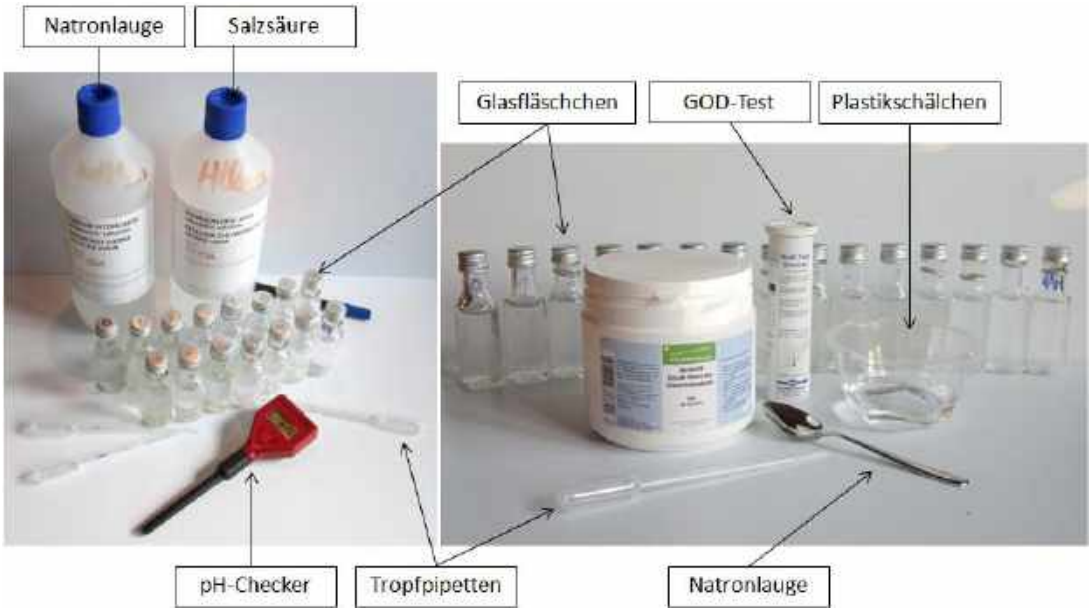


Abb 113 Aufbau zum Stabilitätstest: pH-Wert

(1) Vor dem Test der Steviolglycoside auf ihre Stabilität im sauren und alkalischen Bereich werden durch Verdünnung von jeweils 1-molarer Salzsäure und Natronlauge pH-Lösungen der Werte von pH=0 bis pH=14 hergestellt.

(2) In die pH-Lösungen werden wenige Tropfen einer Steviolglycosid-Lösung gegeben, dann verschlossen und kräftig geschüttelt. In ausgewählten Intervallen wird mit Hilfe des GOD-Tests nach dem vorhergehend beschriebenen Vorgehen der Gehalt an Glucose in den Lösungen ermittelt.

Es wird angenommen, dass gemäß der allgemeinen Aussagen zur guten Stabilität der Steviolglycoside gegenüber saurer und alkalische Hydrolyse aufgrund ihrer dreidimensionalen Molekülform nur im stark Sauren (pH=0-2) bzw. Basischen (pH=12-14) Stoffveränderungen eintreten werden.

Beobachtungen und Auswertung:

Die Beobachtungsintervalle nach Zugabe der Steviolglycosid-Lösung zu den pH-Lösungen richten sich nach den eintretenden Veränderungen der Lösungen und werden so von Test zu Test verlängert (vgl. Anhang zu 3.3.2.2, S.146).

- **vor** Zugabe zu pH-Lösungen: GOD-Test gelb → **negativ**
- nach **1** Stunde: GOD-Test gelb bei allen pH-Werten → **negativ**
- nach **2** Tagen: GOD-Test gelb bei allen pH-Werten → **negativ**
- nach **2** Wochen: GOD-Test gelb bei allen pH-Werten → **negativ**
- nach **9** Wochen: GOD-Test gelb bei pH=2-14 → **negativ**

  pH=1: GOD-Test gelb-grün → **positiv** → saure Hydrolyse von Steviolglycosiden

Genau wie beim Stabilitätstest beim Erhitzen bedeutet die Gelbfärbung des GOD-Tests, dass **keine** Steviolglycoside (bzw. nicht ausreichend viele, um eine Farbreaktion hervorzurufen) gespalten worden sind und in der wässrigen Lösung keine (kaum) oxidierbare Glucose vorliegt. Der Test der wässrigen Lösung mit pH=0 führt zu keinem eindeutigen Ergebnis, da der Teststreifen durch die saure Lösung zersetzt wird (→ Denaturierung der Glucoseoxidase).

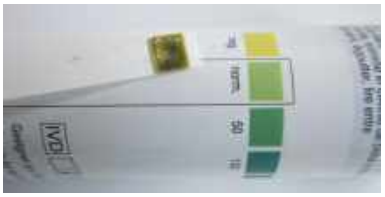


Abb 114 durch Säure unbrauchbarer Teststreifen

Das negative Ergebnis des GOD-Tests mit den Steviolglycosiden über einen weiten pH-Bereich über mehrere Monate hinweg kann folgendermaßen interpretiert werden:

- Denaturierung der Enzyme des Teststreifens im Sauren/Alkalischen → GOD-Test funktioniert nicht mehr
  ⇔ Dagegen spricht der Farbumschlag nach neun Wochen bei pH=1.
- zu geringe Konzentration an Steviolglycosiden in den pH-Lösungen → Farbumschlag wird nicht registriert
  ⇔ Auch hiergegen spricht der Farbumschlag nach neun Wochen bei pH=1.
- hohe Stabilität der Steviolglycoside gegenüber salzsaurer und alkalischer Lösung bei Raumtemperatur aufgrund ihrer Form → Ester-Bindung an C-19 nur durch stark saure Lösung (hohe H_3O^+-Konzentration) in längerem Zeitraum angreifbar

Aus dem durchgeführten Versuch zur Beständigkeit der Stevia-Süßstoffe unter dem Einfluss verschiedener pH-Werte kann für die Anwendung der Steviolglycoside abgeleitet werden, dass sie als Zusatz in nicht erhitzten, nicht neutralen Lebensmitteln (Raumtemperatur) über mindestens zwei Wochen im pH-Bereich von pH=2 bis pH=14 gut lagerfähig sind.

3.3.2.3 Enzymatische Spaltung von Steviolglycosiden mit β-Glucosidase

Materialien und Geräte: 3 Reagenzgläser, Reagenzglasständer, Messküvette, Spatel

Chemikalien: Universalindikator, β-Glucosidase, Steviosid-Pulver [95%; VitaNatura.de], Wasser (Leitungswasser)

Sicherheitshinweis: Durchführung unter Beachtung der Sicherheitsbestimmungen für den Unterricht (gemäß R-/S-Sätze)

Aufbau und Durchführung:

Abb 115 Aufbau zum Stabilitätstest: Enzymatische Zersetzung

(1) In jedes der drei Reagenzgläser werden ca. zwei Milliliter Wasser gegeben. Zu Reagenzglas I und II werden jeweils drei Spatelspitzen Steviosid-Pulver, zu Reagenzglas III eine Spatelspitze β-Glucosidase zugefügt. Durch Schütteln werden wässrige Lösungen hergestellt.

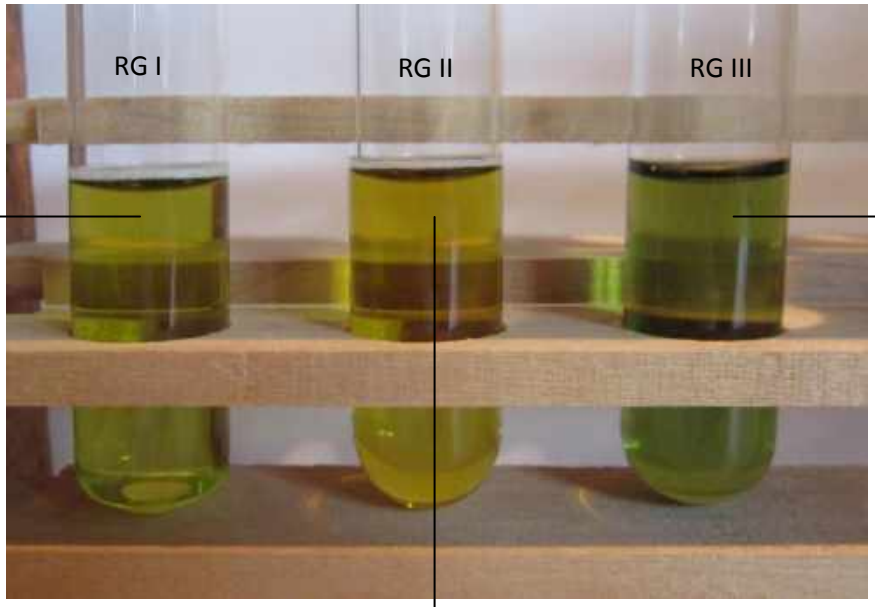
(2) Je Reagenzglas werden vier Tropfen Universalindikatorlösung zugegeben, um den pH-Wert und dessen Änderung bestimmen zu können.

(3) In Reagenzglas II wird eine Spatelspitze β-Glucosidase zugefügt.

Reagenzglas I und III fungieren als Vergleichslösungen zu Reagenzglas II. Es wird angenommen, dass durch das Enzym β-Glucosidase die Steviolglycoside mit Bindung von β-D-Glucose an C-19 an dieser Bindung gespalten werden. Weiterhin müsste durch die so freiwerdende Carboxygruppe eine saure Reaktion hervorgerufen werden (Absinken des pH-Werts).

Um die Enzymaktivität zu erhöhen, werden die drei Lösungen auf eine Temperatur von 40-50°C erwärmt.

Beobachtungen und Auswertung:



Steviosid-Pulver + Indikator hellgrün → pH=7	Steviosid-Pulver + Indikator + β-Glucosidase gelb-grün → pH=6-7	β-Glucosidase + Indikator grün → pH=7-8

Abb 116 Farbumschlag nach Enzymzugabe

Die Färbung der Lösungen in den Reagenzgläsern ist unterschiedlich. Dies lässt sich folgendermaßen erklären:

- RG III: leicht alkalisch aufgrund von Leitungswasser ($c(OH^-_{(aq)}) > c(H_3O^+_{(aq)})$) oder leicht alkalischer Reaktion des Enzyms
- RG I: neutral → leicht saure Reaktion des Steviosid-Pulvers gegenüber RG III
  → Vorliegen von Abbauprodukten mit freier Carboxygruppe im Süßstoff
  → saure Reaktion der Carboxygruppe
- RG II: leicht sauer → zusätzlich enzymatische Spaltung von Steviolglycosiden durch β-Glucosidase an C-19 unter Freiwerdung von sauer reagierender Carboxygruppe gegenüber RG II (Bsp. Steviosid → → Steviolbiosid, vgl. Abb 118)

→ saure Reaktion der Carboxygruppe führt zum Absinken des pH-Werts (von pH=7 auf pH≈6,5) im Reagenzglas II (s. Abb 119)

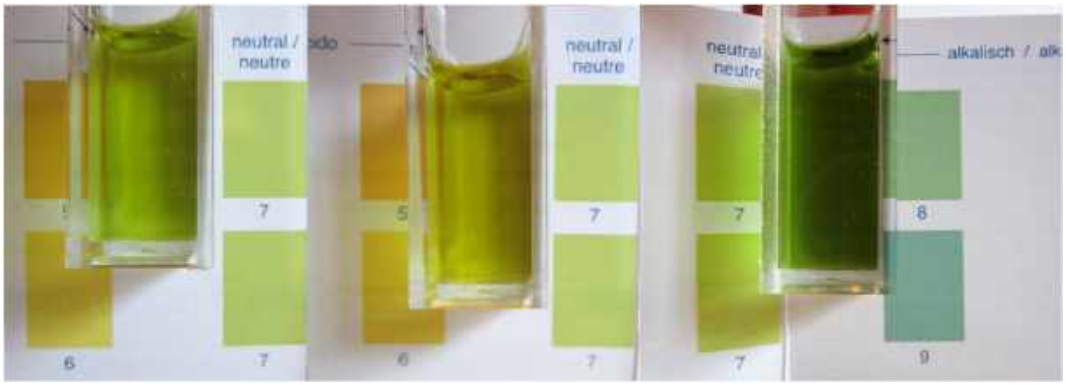


Abb 117 unterschiedliche pH-Werte in den drei Reagenzgläsern, von links RG I bis III

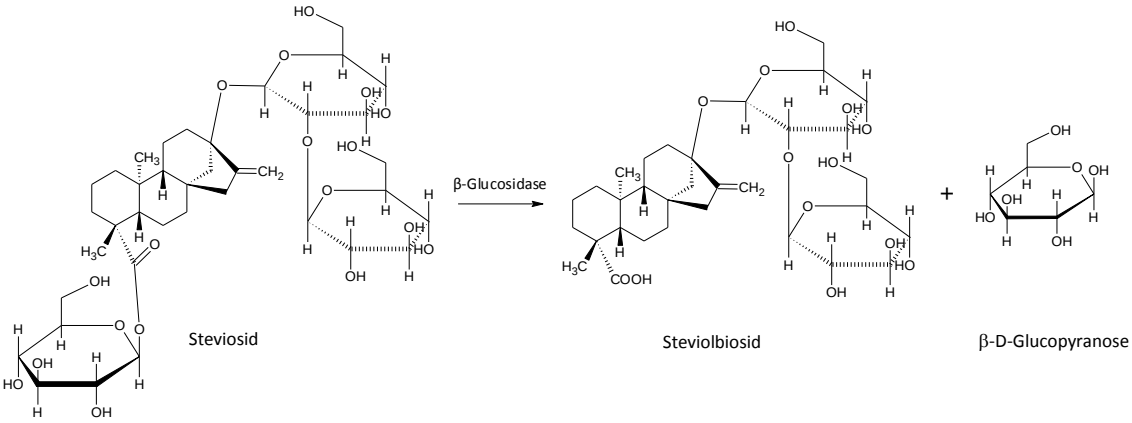


Abb 118 enzymatische Spaltung von Steviosid mit β-D-Glucosidase

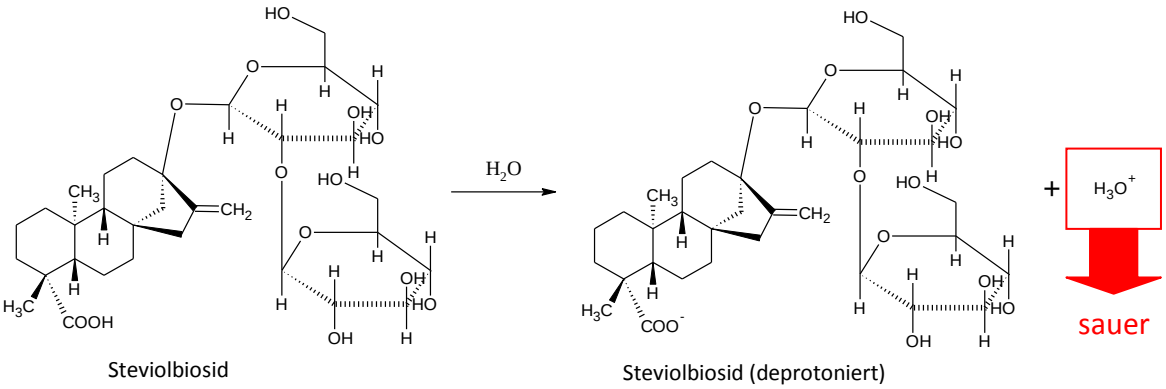


Abb 119 saure Reaktion der Carboxygruppe von Steviolbiosid

Der Nachweis der enzymatischen Spaltung des Stevia-Süßstoffs gelingt mit Hilfe des geringen Farbumschlags des Universalindikators.

Die Steviolglycoside lassen sich folglich relativ einfach in wässriger Lösung durch Erhitzen oder Zugabe eines geeigneten Enzyms spalten. Gegenüber dem Einfluss unterschiedlicher pH-Werte sind sie in gelöster Form bei Raumtemperatur relativ stabil.

Mit Untersuchung der Stabilität der Diterpenglycoside im Allgemeinen und der enzymatischen Zersetzung im Besonderen wird bereits der Weg zum nachfolgenden Abschnitt der Seminararbeit bereitet.

Durch die Erkenntnisse über die Vielzahl in den Blättern enthaltener Verbindungen sowie die Gewinnung und Haltbarkeit der Steviolglycoside wird im Abschnitt „Von der Süße zu den Süßigkeiten“ auf folgende Fragen in Theorie und Praxis eingegangen:

Wie verhalten sich die süßen Verbindungen in Speisen und im menschlichen Körper?

Ist der Süßstoff der Stevia rebaudiana wirklich *„das natürlichste, sicherste und gesündeste Süßungsmittel auf dieser Erde“* (Int1) oder eine toxische Substanz mit undurchsichtigen Folgen?

Und schließlich: Können die Steviolglycoside eine Alternative zu gewöhnlichem Haushaltszucker darstellen?

4 VON DER SÜSSE ZU DEN SÜSSIGKEITEN

Anbau, Nachweis und Gewinnung der süßen Bestandteile der Stevia rebaudiana sind für den Eigenbedarf möglich. Gesüßt wird traditionell mit Saccharose. Wegzudenken ist diese weiße Substanz aus den Küchen nicht. Auf vielfältige und oft versteckte Weise findet Saccharose den Weg in Frühstück, Mittag- und Abendessen. Welche neuen Chancen, Potenziale aber auch Risiken ergeben sich in diesem Zusammenhang mit Steviolglycosiden für die süße Konsumwelt?

4.1 Stevia als Süßungsmittel

Der Markt an synthetischen Süßstoffen ist in der Gegenwart, wie eingangs beschrieben, vor allem Acesulfam-K, Aspartam, Cyclamat und Saccharin vorbehalten. Zahlreiche „Light-Produkte“ enthalten diese Zuckeraustauschstoffe und ermöglichen sie somit für Diabetiker, denen die Zuckeraufnahme verwehrt ist. Als Alternative mit natürlichem Ursprung zu den synthetischen Süßungsmitteln wäre hier der Einsatz von Stevia-Extrakten denkbar. In diesem Zusammenhang interessieren besonders der Geschmack und die sensorische Wahrnehmung der Steviolglycoside im Bezug zu Saccharose. Damit lässt sich beantworten, inwiefern Stevia-gesüßte Nahrungsmittel geschmacklich durch Konsumenten akzeptiert werden.

4.1.1 Geschmackliche Eigenschaften gegenüber Saccharose

Mit der zuckersüßen Chemie von Saccharose können viele Süßstoffe aufgrund fehlender vollmundiger Süße, Bitterkeit und/oder einem charakteristischen Beigeschmack nicht konkurrieren. Mit der umgangssprachlichen Bezeichnungen *Zuckerpflanze* für die Stevia rebaudiana (Bertoni) wird hingegen eine starke Ähnlichkeit zum wichtigsten europäischen Süßungsmittel angedeutet.

Im Gegensatz zu synthetischen Süßstoffen wird die Süße der Steviolglycoside als vollwertig bezeichnet. Obwohl die Süßkraft der einzelnen Verbindungen deutlich über der von Saccharose liegt (s. Tab 6), kann der sensorischen Bewertung ein dem Haushaltszucker nahes Süßprofil angelegt werden. Die Beurteilung der Geschmacksrichtung „süß“ im zeitlichen Verlauf während und nach dem Verzehr gesüßter Lebensmittel ähnelt damit der Wahrnehmung von Saccharose. Das sensorisch hochwertigste Diterpenglycosid

Steviolglycosid	Süßkraft (Saccharose = 1)
Rebaudiosid A	200-300
Rebaudiosid B	150
Rebaudiosid C	30
Rebaudiosid D	221
Rebaudiosid E	174
Rebaudiosid F	200
Steviosid	210
Steviolbiosid	90
Rubusosid	114
Dulcosid A	30

Tab 6 Süßkraft der Steviolglycoside

ist dabei Rebaudiosid A, gefolgt von Steviosid, Rebaudiosid C und Dulcosid A (nach Lit1, S.34; Int3, Int4, Int22).

Die Intensität des süßen Geschmacks der Verbindungen variiert je nach gebundenem Zucker. So weisen Rebaudiosid C und Dulcosid A im Verhältnis zu Rebaudiosid A und Steviosid eine geringere Süßkraft auf, da sie Rhamnose anstatt Glucose im Molekül binden. Mit der bis zu 300-fachen Süßkraft von Saccharose zählen die Steviolglycoside zu den kalorienarmen Süßungsmitteln (2,3 kcal/g), da nur geringe Mengen bei der Zubereitung von Lebensmitteln verwendet werden müssen. Untersuchungen führen zu der Annahme, dass die süßen Verbindungen keinen cephalischen Effekt hervorrufen. Dies bedeutet, sie führen nicht zum Absinken des Blutzuckerspiegels durch erhöhte Insulinsekretion und damit zu einem raschen Hungergefühl (nach Lit1, S.44; Int5, Int13, Int22).

Je nach Kombination mit anderen Süßstoffen oder Aromen wirken die Diterpenglycoside geschmacksverbessernd, geschmacksverstärkend und synergistisch. In der Folge muss insgesamt weniger Süßstoff eingesetzt werden, um für ein Produkt eine bestimmte Empfindung der Süße zu erhalten. Die Bewertung des Stevia-Süßstoffs hinsichtlich des Geschmacks ist sehr subjektiv und inhomogen. Testpersonen nennen jedoch vorwiegend einen an Lakritz erinnernden Nachgeschmack und eine mit steigender Konzentration der Steviolglycoside in den Nahrungsmitteln zunehmende Bitterkeit, für deren Wahrnehmung zwei Geschmacksrezeptoren der Zunge verantwortlich sind. Durch optimale Dosierung der Diterpenglycoside kann ein negativer Beigeschmack weitgehend reduziert werden. Je nach Reinheit, Gehalt der einzelnen Steviolglycoside in der Mischung des Süßstoffs sowie nach dem Herstellungsverfahren ergeben sich für die Steviolglycoside-Produkte voneinander abweichende Geschmacksmuster (nach Int1, Int4, Int8, Int37, Int38, Int39, Int51).

Die funktionellen Eigenschaften des Süßstoffs der Stevia rebaudiana weichen vor allem beim Backen von Lebensmitteln von Saccharose ab. Von der zweifelhaften Stabilität der Verbindungen bei hohen Temperaturen abgesehen, führen die Steviolglycoside selbst zu keiner Bräunung von Gebäck, wie sie bei Saccharose eintritt. Lebensmittel können mit den Diterpenglycosiden nicht konserviert werden, da die Mengen des Süßstoffs in den Nahrungsmitteln zu gering sind. Dies führt darüber hinaus dazu, dass aufgrund des ungleichen Süßkraftverhältnisses zu Zucker ein Teil der Füllmenge des Teigs von Backwaren wegfällt und somit neue Rezeptkompositionen entwickelt werden müssen (nach Lit1, S.52; Int39).

Befürworter des Stevia-Süßstoffs heben schließlich hervor, dass dieser „nicht suchterzeugend wie etwa Zucker“ (Int23) wirkt. Ob man Zucker im Allgemeinen als Suchtmittel bezeichnen kann, ist zwar umstritten, die Süßung von Lebensmitteln mit Steviolglycosiden stellt auf jeden Fall eine Herausforderung an Rezepte und Geschmacksgewohnheiten.

4.1.2 Herstellung von Süßspeisen mit Stevia-Süße

Die angesprochene Herausforderung führt zur Zubereitung von Nahrungsmitteln mit den Süßungsmitteln Steviosid-Pulver und Stevia-Tafelsüße. Als Grundlage für das Kochen und Backen von Lebensmitteln mit Steviolglycosiden wird die Zulassung dieses Süßstoffs von der Europäischen Kommission im November 2011 herangezogen. Folglich wird zunächst davon ausgegangen, dass der Konsum des Stevia-Süßstoffs, trotz möglicher Zersetzung der Verbindungen bei der Zubereitung der Speisen, sicher ist.

4.1.2.1 Geschmackstest mit Vanille-Pudding

Zur Bewertung von Geschmack und Süße von Speisen werden Produkte ausgewählt, welche herkömmlich mit Zucker gesüßt worden sind und nun ebenso mit den Extrakten der Stevia rebaudiana hergestellt werden. Diese Lebensmittel sollen möglichst bekannt und beliebt sein, damit die Testpersonen bereits eine Geschmacksvorstellung von den Produkten besitzen. Als erste Speise wird aus diesem Grund Vanillepudding ausgewählt.

Zutaten: 10 Päckchen Vanillepudding-Pulver, 200 g Haushaltszucker, 20 g Stevia-Tafelsüße (mit Maltodextrin/ Nevella), 5 L Milch

Materialien: Rührbecher, Handrührgerät, Waage, Löffel, Messbecher, Topf, Rührbesen, Kochplatte, Schöpflöffel, 60 Plastikschälchen mit Deckel, Etiketten mit Beschriftung

Zubereitung:

Abb 120 Aufbau zum Kochen von Vanille-Pudding

(1) In einem Kochtopf werden nacheinander je zwei Liter Milch erhitzt und zum Sieden gebracht.

(2) Während des Erhitzens der Milch werden in einem Rührbecher 200 g Zucker (bzw. 20 g Stevia-Tafelsüße) zusammen mit fünf Päckchen Vanille-Pudding-Pulver (zuckerfrei) und einem halben Liter Milch vermischt.

(3) Kurz bevor die Milch siedet, gibt man jeweils die vorbereitete Pudding-Masse hinzu und rührt kräftig bis zum Eindicken der Flüssigkeit.

(4) Mit einem Schöpflöffel wird der fertige Pudding auf 30 verschließbare Plastikschälchen zu gleichen Mengen verteilt. Nach dem Abkühlen werden die Schälchen verschlossen und mit den Nummern 1 (für mit Stevia gesüßten Pudding) und 2 (für mit Saccharose gesüßten Pudding) etikettiert.

Durch die Etikettierung soll eine Verwechslung bei der Ausgabe an Testpersonen ausgeschlossen werden.

Durchführung des Geschmackstests:

Die Auswahl der Testpersonen findet im Rahmen des W-Seminar Chemie 2011/2012, der Schülerzeitung VäHiG des Veit-Höser-Gymnasiums Bogen und freiwilliger Personen (in-und außerschulisch) statt.

(1) Vor der Durchführung des Geschmackstests werden Bewertungsbögen zur Beurteilung des Vanille-Puddings nach verschiedenen Kriterien erstellt (vgl. Anhang zu 4.1.2.1, S.147). Die Testpersonen bewerten Aussehen, Geruch, erster Eindruck, Konsistenz, Geschmack, Nachgeschmack und den Gesamteindruck für jeden Pudding.

(2) Jede Testperson erhält zwei Pudding-Schälchen mit Etikett, einen Löffel und einen Bewertungsbogen. Vor dem Probieren sollen zunächst die Kriterien des Bogens überflogen werden, um anschließend eine ernsthafte Meinung wiedergeben zu können.

Die ausgefüllten Bögen werden eingesammelt und ausgewertet. Am Geschmackstest zum mit Zucker oder Stevia gesüßten Vanille-Pudding haben insgesamt 36 Testpersonen teilgenommen, die sich in drei Fällen die Pudding-Schälchen zu zweit geteilt haben. Die Tester/innen sind gleich auf beide Geschlechter verteilt.

Tester-Gruppe	Anzahl
Schüler/innen Jahrgangsstufe 7	3
Schüler/innen Jahrgangsstufe 8	3
Schüler/innen Jahrgangsstufe 9	1
Schüler/innen Jahrgangsstufe 10	4
Schüler/innen Jahrgangsstufe 11	18
Lehrkräfte	6
Außerschulisch	1

Tab 7 Zusammensetzung der Testgruppe

Beobachtungen:

Abb 121 abgefüllter Vanille-Pudding

Abb 122 Kochen von Vanille-Pudding

vor dem Essen[1]

Süßungsmittel Zucker

- appetitliches (81%), neutrales (19%) Aussehen
- angenehmer (83%) Geruch nach Vanille (44%) und Milch

Süßungsmittel Stevia-Tafelsüße

- appetitliches (54%), neutrales (48%) Aussehen
- angenehmer (94%), vanilliger (64%) Geruch

beim Essen

Süßungsmittel Zucker

- erster Eindruck: süß (92%), Vanille (47%)
- normale(80%), fest 8,3%) bis flüssige (8%) Konsistenz
- vorwiegend süß (97%) und vanillig (44%)
- angenehm (67%) bis zu süß (39%)
- angenehm süßer (61%) bis klebrig süßer (25%), vanilliger (36%) Nachgeschmack mit leichter Bitterkeit (2,8%)

Süßungsmittel Stevia-Tafelsüße

- erster Eindruck: Vanille (50%), bitter (22%), süß (17%)
- normale (64%), fest (25%) bis flüssige (8,3%) Konsistenz
- vorwiegend vanillig (39%), bitter (31%) und süß (8,3%)
- kaum/nicht süß (33%), zu wenig süß (67%) bis angenehm süß (11%)
- bitterer (36%), vanilliger (19%) bis kein (25%) Nachgeschmack

[1] Angaben in Klammern entsprechen Anteilen an den Testpersonen; Mehrfachnennungen möglich

Gesamteindruck (nach dem Essen)

Ein Geschmacksunterschied zwischen den beiden Puddings wird von allen Testpersonen festgestellt. Der mit Saccharose gesüßte Vanille-Pudding überzeugt 31, der Stevia-gesüßte Pudding nur vier Tester.

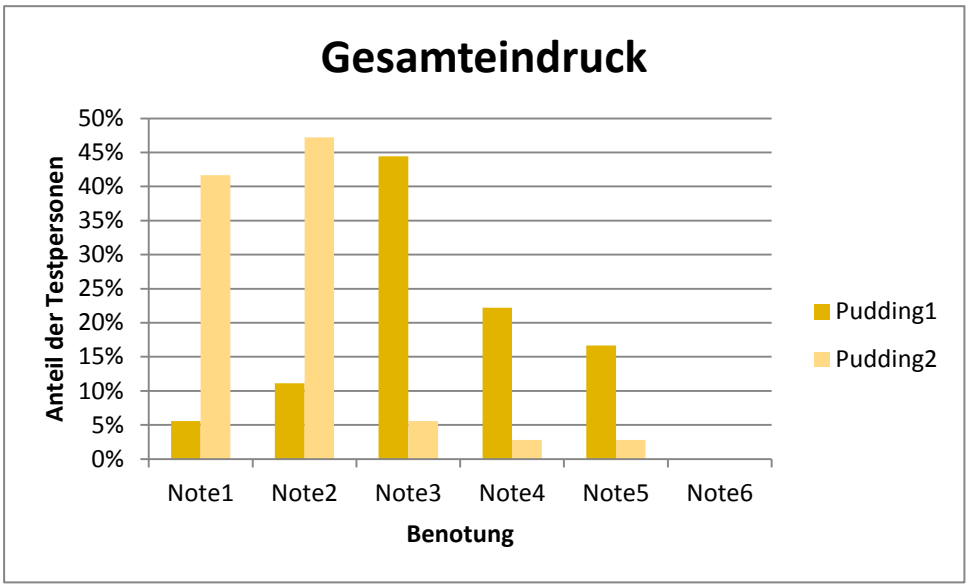


Abb 123 Gesamtbewertung von Pudding 1 (mit Stevia) und Pudding 2 (mit Saccharose)

Auswertung:

Aus den Beobachtungen beim Geschmackstest mit Vanillepudding lassen sich interessante Gemeinsamkeiten und Unterschiede zwischen den beiden Puddings herausgreifen.

- kaum optischer Unterschied und ähnliche Konsistenz
  → identische Zubereitung
- verstärkter Geruch und Geschmack nach Vanille beim Stevia-gesüßten Pudding
  → geschmacksverstärkende Wirkung der Steviolglycoside, welche das Vanillearoma hervorhebt
- wahrnehmbar bitterer Geruch, Geschmack und Nachgeschmack des Stevia-Vanille-Puddings
  → evtl. Süßstoff von nicht ausreichender Reinheit; Eigenschaft der Steviolglycoside
- kräftigere Süße des Saccharose-Puddings im Verhältnis zum Stevia-Pudding
  → Gewöhnung des Geschmacks an mit Saccharose gesüßte Produkte
  → zu geringe Menge an Stevia-Süßstoff (nach Umrechnung der Tafelsüße gegenüber Zucker)

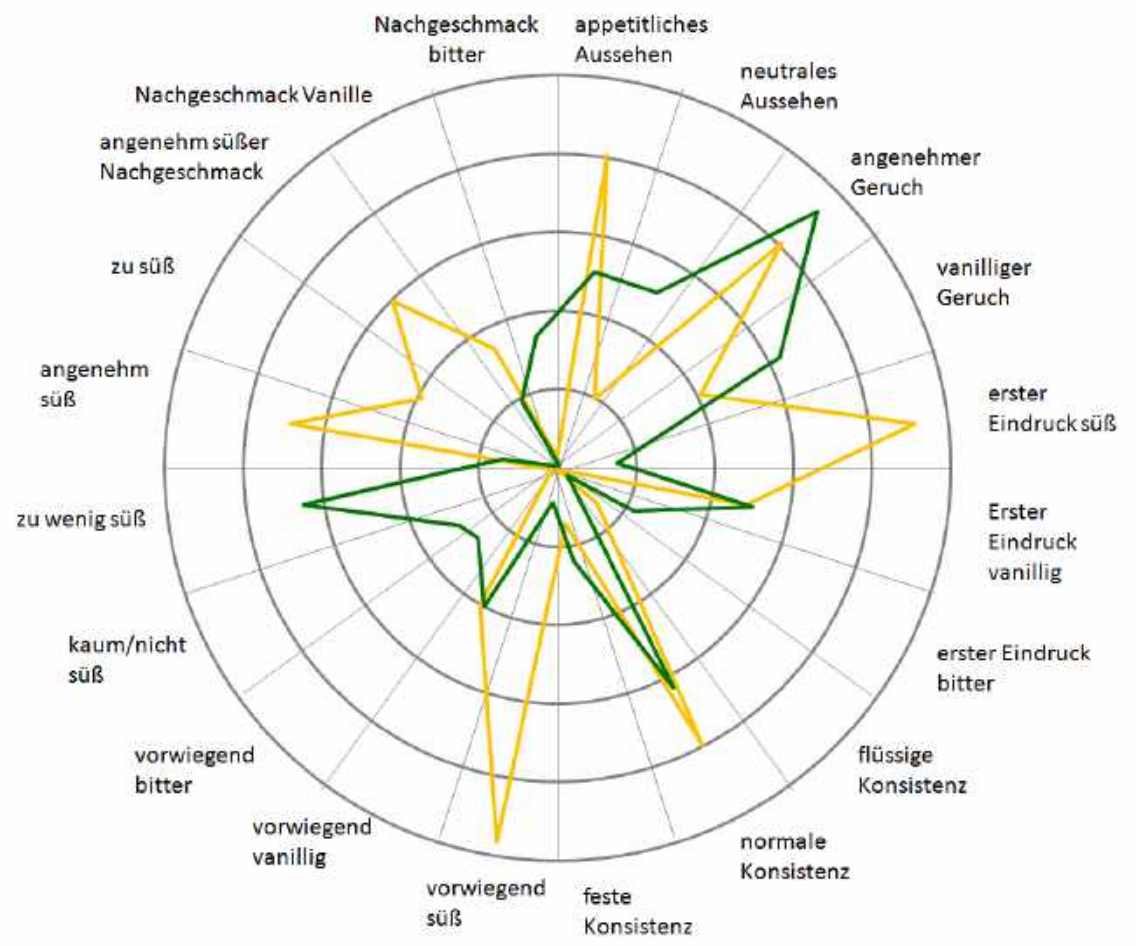


Abb 124 geschmackliche Gesamtbewertung des Stevia-Puddings (grün) und des Zucker-Puddings (orange): ein Ring entspricht 20% der Testpersonen

Die insgesamt bessere Bewertung erhält der mit Saccharose gesüßte Pudding mit einer Durchschnittsnote von 1,78 im Vergleich zum Stevia-gesüßten Pudding mit 3,33.

Daraus geht hervor, dass der Geschmack der Steviolglycoside gegenüber Saccharose in der zubereiteten Süßspeise nicht vollständig überzeugen kann. Die Meinungen der Tester bestätigen hiermit die theoretisch erläuterten Eigenschaften der Steviolglycoside, dem Süßprofil von Zucker zwar nahe zu kommen und gegenüber den Aromen geschmacksintensivierend zu wirken, aber zugleich einen bitteren Beigeschmack zu entfalten.

Schließlich ist auffällig, dass die Meinungen der Testpersonen bezüglich des Stevia-Puddings deutlich stärker streuen als die Bewertungen des herkömmlich hergestellten Vanille-Puddings (z.B. beim Nachgeschmack). Eine vollwertige Alternative scheint der Stevia-Süßstoff gemäß dieses Tests (noch) nicht darzustellen, auch wenn es positive Effekte bezüglich der geschmacksverstärkenden Wirkung gibt.

Ob sich der Ausgang dieses Tests für die Verwendung der Steviolglycoside als Süßstoff verallgemeinern lässt, sollen weitere Rezepte zeigen. Auf eine ausführliche statistische Erhebung wird in der Folge der Einfachheit halber verzichtet.

4.1.2.2 Rezept Apfel-Birnen-Kuchen

Als Grundlage für eine zweite Meinungsumfrage zu mit Steviosid-Pulver gesüßten Lebensmitteln wird ein speziell für diesen Süßstoff konzipiertes Rezept verwendet (Rezept nach Lit1, S.120). Damit soll gewährleistet werden, dass das Produkt eine wohlschmeckende Zutatenkombination beinhaltet.

Zutaten: 1 Apfel, ½ Birne, Zitronensaft, 90 g Margarine, Steviosid-Pulver [95%; VitaNatura.de], 3 Eier, flüssiges Zitronenaroma, 300 g Mehl, 1 Päckchen Backpulver, ca. 200 mL Milch, Pfirsichmarmelade

Materialien: Waage, Messer, Teller, Rührschüssel, Handrührgerät, 2 Tassen, Rührbecher, Backpapier, Springform, Backpinsel, Backofen, Mikrowelle

Zubereitung:

Abb 125 Zutaten Apfel-Birnen-Kuchen

(1) Apfel und Birne werden geschält, halbiert und in Stücke geschnitten. Die Obsthälften werden außen leicht mit dem Messer eingeschnitten, mit Zitronensaft beträufelt und auf einen Teller gelegt.

(2) In einer Rührschüssel werden 90 g Margarine, 3 Eigelb, drei Messerspitzen Steviosid-Extrakt-Pulver und ein Fläschchen flüssiges Zitronenaroma zu einer schaumigen Masse verrührt.

(3) 300 g Weizenmehl, ca. 200 mL Milch und ein Päckchen Backpulver werden unter die Eigelbzubereitung gemengt und zu einem feinen Teig gerührt.

(4) In einem Rührbecher werden drei Eiweiße steif geschlagen und anschließend vorsichtig unter den Kuchenteig untergehoben.

(5) Der Teig wird in eine mit Backpapier beschichtete Springform gefüllt. Auf der Teigoberfläche werden die Obststücke verteilt

Der Kuchen wird für 55 Minuten im vorgeheizten Backofen bei 150°C gebacken. Nach der Entnahme aus dem Ofen können die Früchte noch mit Pfirsichmarmelade bestrichen werden. In diesem Fall ist das Rezept aber nicht völlig „zuckerfrei“.

Durchführung der Meinungsumfrage:

Der fertige Kuchen wird an 20 Testpersonen ausgegeben und die Bewertung im Rahmen des Veit-Höser-Gymnasiums mit Schülern und Lehrkräften sowie außerschulischen Freiwilligen durchgeführt. Die Teilnehmer werden gebeten, ihre Meinung und Bemerkungen zum Geschmack des Kuchens auf einem Zettel zu notieren.

Tester-Gruppe	Anzahl
Schüler/innen Jahrgangsstufe 11	16
Lehrkräfte	2
Außerschulisch	2

Tab 8 Zusammensetzung der Testpersonen

Beobachtungen und Auswertung:

beim Backen

Während des Backvorgangs geht der Teig luftig auf, sinkt nach der Entnahme aus dem Ofen jedoch wieder ein.

→ Zersetzung von Backpulver (Natriumhydrogencarbonat) führt zur Freisetzung von Kohlenstoffdioxid, welches den Teig locker macht (nach Int41)

$$2\ NaHCO_3 \longrightarrow Na_2CO_3 + H_2O + CO_{2\,(g)}$$

→ fehlende Füllmenge von Zucker führt zum festeren Teig nach dem Abkühlen (CO_2 entwichen)

Abb 126 Apfel-Birnen-Kuchen

geschmackliche Bewertung

Die einzelnen Meinungen der Testpersonen bezüglich Süße, Konsistenz und auftretender Bitterkeit weichen ebenso wie beim vorhergehend beschriebenen Geschmackstest mit Vanille-Pudding stark voneinander ab (vgl. Anhang zu 4.1.2.2, S.150). Kennzeichnende Gegensätze ergeben sich aus folgenden Bewertungen:

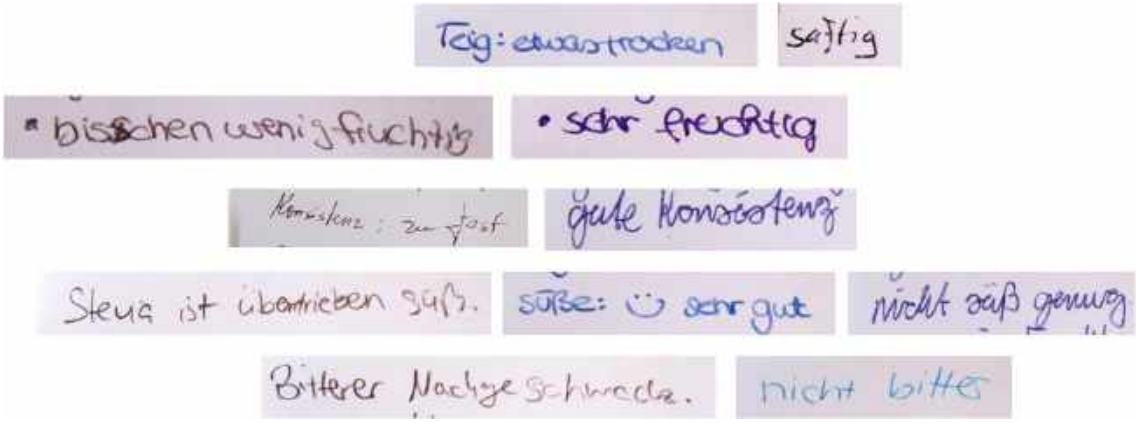


Abb 127 repräsentative, kontrastäre Bewertungen des Apfel-Birnen-Kuchens

Die stark variierenden Beurteilungen des Kuchens führen zu der Hypothese, dass das subjektive Geschmacksempfinden je nach persönlichen Essgewohnheiten zu keiner einheitlichen Einschätzung führen kann.

Die Ursachen der genannten, tendenziell negativen geschmackliche Eigenschaften des Kuchens lassen sich auf folgende Grundlagen zurückführen:

- feste, trockene Konsistenz
  → Fehlen des „Füllstoffs“ Saccharose und damit im Bezug zu weiteren Zutaten erhöhter Anteil des Mehls im Teig
- wenig fruchtiger Geschmack
  → relativ geschmacksneutrales Obst
  → evtl. zu wenig Zitronenaroma
- übertriebene bis zu wenig ausgeprägte Süße
  → schwierige Dosierung des Süßstoffs aufgrund seiner hohen Süßkraft und synergistischer Effekte mit weiteren Zutaten und persönliche Vorlieben/Ansprüche der Probanden
- Bitterkeit
  → Eigenschaft der Steviolglycoside bei falscher Dosierung

Neben den negativen Teilaspekten lässt sich aus den Bewertungen jedoch eine positive Gesamttendenz erkennen. Demnach sei die „Zusammensetzung gut aufeinander abgestimmt“ und „lecker“ (Meinungen zweier Testpersonen).

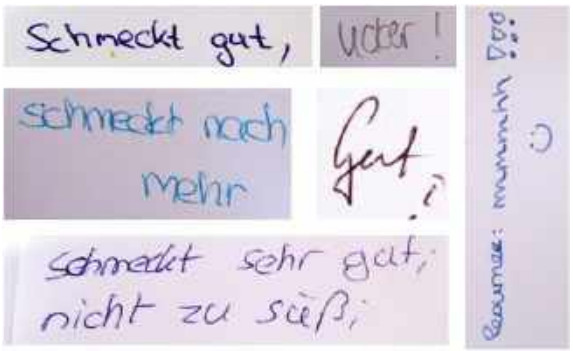


Abb 128 positive Bewertungen des Apfel-Birnen-Kuchens

Aufgrund der uneinheitlichen Kritiken des Stevia-gesüßten Kuchens kann bisher insgesamt keine eindeutige Antwort auf die Frage nach einer reellen Zuckeralternative in Form von Steviolglycosiden gegeben werden.

4.1.2.3 Rezept Mandel-Sandkuchen

Das vorhergehende Rezept ist auf Basis des Stevia-Süßstoffs konzipiert worden. In weiteren Schritten werden Kuchen auf eigentlicher „Zuckerbasis“ mit Steviolglycosid-Pulver gesüßt (Rezept nach Lit7, S.348).

Zutaten: 200 g Margarine, 4 Eier, 150 mL Milch, 1 Prise Salz, 1 Bittermandel-Aroma, 425 g Mehl, 125 g Speisestärke, Steviosid-Pulver [95%; VitaNatura.de], 1 Päckchen Backpulver

Materialien: Waage, Rührschüssel, Handrührgerät, Backpapier, Springform, Backofen

Zubereitung:

Abb 129 Zutaten für Mandel-Sandkuchen

(1) Die Margarine wird unter Zugabe der Eier schaumig gerührt. Eine Prise Salz und das Bittermandel-Aroma werden zugegeben.

(2) Das Backpulver wird mit Mehl und Stärkemehl gemischt und zusammen mit der Milch dem Teig zugegeben.

(3) Anstelle des Zuckers werden vier Messerspitzen Steviosid-Pulver zugegeben und der Teig zu einer homogenen Masse verrührt.

Der in eine Springform gefüllte Kuchenteig kann mit Mandelplättchen bestreut werden und wird bei 150°C Umluft im vorgeheizten Backofen für ca. eine Stunde gebacken. Nach dem Backen soll der Kuchen auskühlen und wird dann aus der Springform entnommen.

Durchführung der Meinungsumfrage:

15 Testpersonen des Veit-Höser-Gymnasiums Bogen und außerschulische Freiwillige werden gebeten, ihre Meinung zum Kuchen auf einem Zettel zu notieren.

Beobachtungen und Auswertungen:

Abb 131 Mandel-Sandkuchen

Abb 130 kontrastäre Meinungen der Probanden

Ähnlich dem obigen Ergebnis beim Stevia-Kuchen sind die Einzelmeinungen der Probanden überwiegend gegensätzlich (vgl. Anhang zu 4.1.2.3, S.151).

Aus den Bewertungen der Testpersonen lassen sich drei wesentliche Tendenzen des Mandel-Sandkuchens festhalten:

- trockener Teig:

→ Substitution von Saccharose durch Zugabe einer erhöhten Menge Mehl (Stärke) → höherer Anteil an wasserbindender Stärke im Kuchen → Verhältnis von Milch (Feuchtigkeit) zum Mehl (Stärke) sinkt → trockener Teig

Abb 132 Bewertung des Sandkuchens: „trocken"

- geringe Süße:

→ zu geringe Menge an Steviosid-Pulver

Abb 133 Bewertung des Sandkuchens: „wenig süß"

- langanhaltender Nachgeschmack/Bitterkeit:

→ geschmacksverstärkende Wirkung der Steviolglycoside gegenüber Aromen
→ lakritzartig-bitterer Beigeschmack der Steviolglycoside

Abb 134 Bewertung des Sandkuchens: „Nachgeschmack" und „Bitterkeit“

Aus den Wertungen geht hervor, dass sich ein Kuchenrezept, bei dem der Anteil an Saccharose im Bezug zu Mehl und Stärke relativ hoch ist (40%), eher weniger mit Steviosid-Pulver und partieller Substitution des Zuckers durch zusätzliches Mehl zubereiten lässt.

4.1.2.4 Rezept Tarte au citron

Mit Hilfe der Erkenntnis, dass der Teig eines Kuchens durch zusätzliches Mehl fester und trockener wird, wird ein Kuchen mit Stevia-Süße gebacken, bei dem eine entsprechende Zucker-Substitution mit Mehl nicht nötig ist (nach Lit8, S.40).

Zutaten: Teig: 150 g Mehl, 125 g Margarine, 1 EL Wasser; Füllung: 150 mL Sahne, 4 Eier, Zitronen-Aroma, 12 EL Zitronensaft; Steviosid-Pulver [95%; VitaNatura.de]

Materialien: Waage, Rührschüssel, Handrührgerät, Backpapier, Springform, Löffel, Gabel, Backofen, Kühlschrank, Frischhaltefolie, Alufolie

Abb 135 Zutaten für Tarte au citron

(1) Der Teig wird aus dem Mehl, der Margarine, dem Wasser und einer Messerspitze Steviosid-Pulver mit den Fingern durch Kneten geformt, in Frischhaltefolie gewickelt und für ca. 30 Minuten in den Kühlschrank gestellt.

(2) Nach der Ruhezeit wird der Boden der Springform mit dem Mürbteig ausgekleidet und dessen Oberfläche mit einer Gabel eingestochen.

(3) Nach weiteren 30 min im Kühlschrank wird der Boden der Tarte für 15 min unter Abdeckung mit Alufolie bei 150°C vor- und nach Entfernen der Folie weitere 15 min golden gebacken.

(4) Aus den Eiern, Sahne, drei Messerspitzen Steviosid-Pulver, Zitronen-Schalen-Aroma und Zitronensaft wird die Füllung zubereitet und auf dem vorgebackenen Kuchenboden verteilt.

Der Kuchen wird für 20 Minuten bei 150°C Umluft im vorgeheizten Backofen gebacken bis die Füllung fest wird. Die Menge an zugegebenem Steviosid-Pulver wurde durch Geschmacksproben während der Zubereitung ermittelt.

Beobachtung und Auswertung:

Die Tarte au citron weist eine appetitliche, goldbraune Färbung auf. Der Mürbteigboden ist fest, die Füllung weich. Zwei Testpersonen halten fest, dass der Kuchen intensiv nach Zitrone schmeckt und süß ist. Hervortretende Bitterkeit wird nicht wahrgenommen.

Abb 136 Tarte au citron

Analog zu den vorhergehenden Beschreibungen lässt sich die kräftige Wahrnehmung des Aromas auf die Geschmacksverstärkung durch die Steviolglycoside zurückführen. Fehlende Bitterkeit, passende Konsistenz und angenehme Süße weisen auf eine angepasste Konzentration des Süßstoffs im Kuchen hin.

Da beim Mürbteigboden an sich nach dem Grundrezept wenig Zucker (25 g) verwendet werden muss, fehlt beim Teig die Füllmenge von Saccharose nicht. Gleiches gilt für die Füllung, bei der der fehlende Zucker durch die anderen Zutaten kompensiert wird. Dieses Rezept scheint sich daher alternativ zur Verwendung von Haushaltszucker mit Steviolglycosid-Pulver ohne negative Beeinflussung des Geschmacks zubereiten zu lassen.

4.1.2.5 Rezept Vanille-Glückskekse

Ein Sprichwort behauptet „süß macht glücklich“. Den Wahrheitsgehalt hinter dieser Formulierung zu durchleuchten, würde an dieser Stelle zu weit führen. Für die Zubereitung einer weiteren Süßspeise neben den vorgestellten Kuchen kann diese (Schein-)Weisheit jedoch nützlich umformuliert werden. Macht der Stevia-Süßstoff Vanille-Glückskekse angenehm süß?

Zutaten: 3 Eiweiß, 80 g Mehl, 45 g Margarine (geschmolzen), Steviosid-Extrakt-Pulver, ½ Buttervanille

Materialien: Schüssel, Tasse, Handrührgerät, Teelöffel, Backblech, Backpapier, Backofen

Zubereitung:

Abb 137 Zutaten für Vanille-Glückskekse

(1) Das vorbereitete Eiweiß wird in einer Schüssel zunächst schaumig gerührt, dann die Margarine untergemischt und beide Zutaten luftig geschlagen.

(2) Zu der Eiweißmasse wird eine Messerspitze Steviosid-Extrakt-Pulver, ein halbes Fläschchen Buttervanille-Aroma und 80 Gramm Mehl zugefügt und alles zu einem glatten Teig verrührt.

(3) Auf ein mit Backpapier ausgelegtes Backblech werden mit einem Teelöffel zwei bis vier Millimeter dünne, ca. vier bis sechs Zentimeter große, runde Teigklekse verteilt.

Die Kekse werden bei 150°C über 15 Minuten gebacken, bis die Ränder der Taler goldbraun sind. Mit einem Messer können die noch warmen Kekse (ca. 20 Stück) vom Backpapier abgelöst und je nach Wunsch gefaltet werden (Rezept nach Int40).

Die fertigen Kekse werden zum Probieren an freiwillige Testpersonen des Veit-Höser-Gymnasium Bogens verteilt und deren Bemerkungen zum Gebäck notiert.

Beobachtungen und Auswertung:

beim Backen

- „Flüssigkeitsperlen“ an der Oberfläche der Kekse
  → erhitztes, geschmolzenes Fett
- hart, knuspriges Gebäck
  → Feuchtigkeitsentzug durch Backvorgang

Abb 138 Stevia-Vanille-Glückskekse

geschmackliche Bewertung

Die mit Stevia gesüßten Glückskekse mit Vanillearoma bestätigen die bisherige Erkenntnis, dass das Süßungsmittel „Stevia“ als vollwertiger Zuckerersatzstoff verwendet werden kann, jedoch geschmacklich nicht vollständig akzeptiert wird.

- keine Bitterkeit
  → geeignete Dosierung
  ⇔ geringe Süße
- typischer Geschmack der Steviolglycoside

Abb 139 notierte Meinungen zu Stevia-Vanille-Glückskeksen

Zwar wird durch eine geeignete Dosierung kein störender, bitterer Beigeschmack hervorgerufen, die Kekse werden dennoch lapidar als „nicht schlecht, aber ungewöhnlich“ bewertet.

Besonders hervorzuheben ist die Wahrnehmung eines „[i]rgendwie typisch[en Geschmacks] wie Stevia“. Daraus ließe sich ableiten, dass bei mehrmaligem Verzehr von Stevia-gesüßten Produkten das Süßungsmittel anhand seines charakteristischen Geschmacks erkannt werden kann. Damit einher geht die Frage, ob Süßspeisen unter Vorgabe der Verwendung des Stevia-Süßstoffs aus einer bestimmten Erwartungshaltung bezüglich des Geschmacks anders bewertet werden als mit Zucker gesüßte Produkte. Mit der Beantwortung dieser Fragestellung sollen die Ergebnisse der Geschmackstests unter einem größeren Blickwinkel betrachtet werden können.

4.1.2.6 Placebo-Geschmackstest mit Zitronenkuchen

Zur Untersuchung der genannten Frage wird auf einen schnell zuzubereitenden und an Geschmack erprobten Kuchen unter Verwendung einer Backmischung zurückgegriffen. Dies bietet den Vorteil, ein akzeptiertes Produkt zu erhalten, bei dem jedes Kuchenstück zu den weiteren geschmacklich identisch ist.

Zutaten: Backmischung „Zitronenkuchen“, 100 mL Milch, 150 g Margarine, 3 Eier, Semmelbrösel

Materialien: Waage, Rührschüssel, Handrührgerät, Backform, Backpinsel, Löffel, Backofen

Zubereitung:

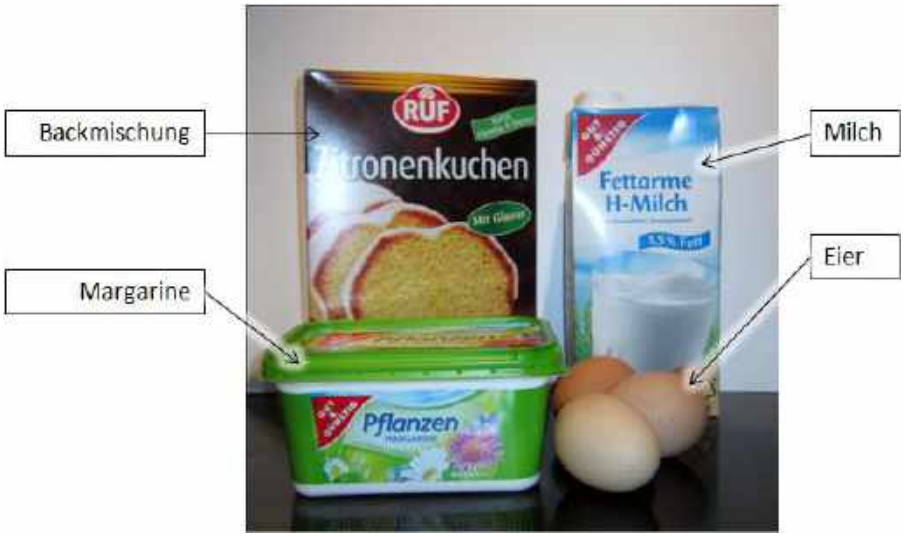


Abb 140 Zutaten für Zitronenkuchen

(1) Die Backmischung, Milch, weiche Margarine und Eier werden in einer Rührschüssel über mindestens drei Minuten kräftig zu einem cremigen Teig verrührt.

(2) Die Backform wird mit geschmolzener Margarine ausgestrichen und mit Semmelbrösel ausgekleidet, damit sich der Kuchen leicht herauslösen lässt. Der vorbereitete Teig wird auf sechs Kuchenformen verteilt.

Der Zitronenkuchen wird bei 150°C Umluft im vorgeheiztem Backofen über 50 min goldbraun gebacken. Durch Öffnung des Backrohrs wird der fertige Kuchen langsam abgekühlt, dann aus dem Ofen entnommen. Durch Stürzen der Form können die einzelnen Kuchen der Backform entnommen werden.

Alle sechs Kuchen sind identisch und mit Saccharose gesüßt.

Durchführung des Geschmackstest:

Drei der sechs im Durchmesser etwa zwölf Zentimeter großen Kuchen werden als „mit Stevia gesüßt“ ausgezeichnet, die anderen drei erhalten die Benennung „mit Zucker gesüßt“. Die Testpersonen für den Geschmackstest setzen sich aus 21 Oberstufenschüler/nnen des Veit-Höser-Gymnasium Bogens zusammen.

(1) Die sechs Kuchen werden zu gleichen Teilen in zwei verschiedenen, je nach propagiertem Süßungsmittel beschrifteten Schüsseln angeboten und mit zwei unterschiedlichen Messern in jeweils acht Stücke geschnitten.

(2) Zur Bewertung der Kuchen mit den „verschiedenen“ Süßungsmitteln Zucker und Stevia erhalten die Probanden einen Bewertungsbogen, welcher die Bereiche Konsistenz, Intensität des Zitronenaromas, Süße, Bitterkeit, vorwiegende Eigenschaft und die Benotung der Kuchen aufführt (vgl. Anhang zu 4.1.2.6, S.153).

Unter den Testpersonen ist aus vorhergehenden Geschmackstests bekannt, dass der Stevia-Süßstoff bitter schmecken kann. Die Probanden werden in den Glauben versetzt, zwei unterschiedliche Kuchen zu testen.

Beobachtungen:

Abb 141 Zitronenkuchen in Backform

Abb 142 sechs identische Zitronenkuchen beim Auskühlen

Alle sechs Zitronenkuchen sind etwa gleich groß und goldbraun gebacken. Bei der Entnahme aus dem Backofen geht von den Kuchen ein angenehmer, süß-zitroniger Duft aus.

geschmackliche Einzelbewertung[2]

Süßungsmittel Zucker	*Placebo-Süßungsmittel Steviosid-Pulver*
mittlere (57%) und weiche (43%) Konsistenz	mittlere (43%) und weiche (57%) Konsistenz
leichtes Zitronenaroma (62%)	ausgewogenes Zitronenaroma (62%)
ausgewogene Süße (62%)	ausgewogene Süße (90%)
keine Bitterkeit (95%)	keine (81%) bis leichte (19%) Bitterkeit
vorwiegend süß (62%)	vorwiegend Zitronengeschmack (52%) und süß (43%)
schlechteste Note: 3	schlechteste Note: 4
Gesamtnote: 2,0	Gesamtnote: 1,5

Fazit und Vergleich

Zwei Drittel der Testpersonen sind der Meinungen, einen geschmacklichen Unterschied zwischen den Kuchen feststellen zu können. Der als Stevia-gesüßter Kuchen ausgegebene Zitronenkuchen wird dem mit Zucker gesüßtem allgemein bevorzugt.

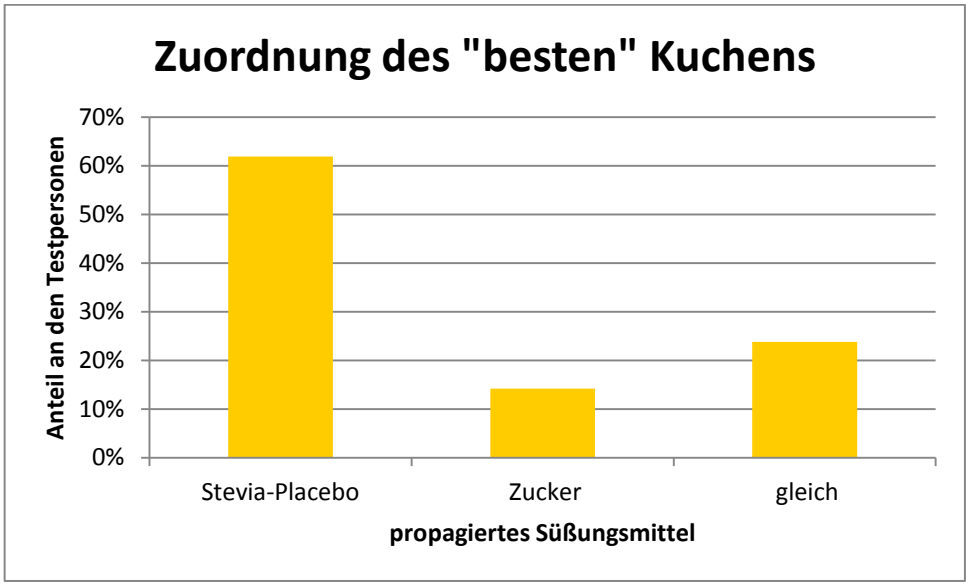


Abb 143 Bevorzugung des „Stevia"-Kuchens

besserer Kuchen		
absolute Zahl		*Anteil*
Stevia	13	61,90%
Zucker	3	14,29%
gleich	5	23,81%

Tab 9 Bewertung der Placebo-Kuchen

[2] Angaben in Klammern entsprechen Anteilen an den Testpersonen

Auswertung:

Die Betrachtung der unterschiedlichen Bewertungen der identisch zubereiteten Kuchen führt zu folgenden Ergebnissen, welche sich mit den genannten Hypothesen erklären lassen:

- ähnliche, aber nicht deckungsgleiche Konsistenz
  → Erwartung des Vorliegens zweier unterschiedlicher Kuchen führt zur Meinung unterschiedlicher Teigbeschaffenheit
- leichteres Zitronenaroma beim „Zucker-Kuchen“
  → mögliche Erwartung an süßen „Zucker-Kuchen“ und weniger süßen „Stevia-Kuchen“ führt zur Aufwertung des Zitronenaromas beim „Stevia-Kuchen“
- ausgewogenere Süße beim „Stevia-Kuchen“
  → Vermutung geringerer Süßkraft beim Süßstoff
- höhere Bitterkeit beim „Stevia-Kuchen“
  → negative Erfahrungen mit bitteren Stevia-Produkten führen zur Übertragung dieser Eigenschaft der Steviolglycoside auf den scheinbar mit diesem Süßstoff zubereiteten Kuchen
- vorwiegender Süßgeschmack beim „Zucker-Kuchen“
  → Erwartung höherer Süßkraft bei Zucker im Gegensatz zum Stevia-Süßstoff
- bessere Bewertung des „Stevia-Kuchens“
  → positive Überraschung über ausgewogene, nicht wie beim Zucker hervortretende Süße und augenscheinlich geringe bis keine Bitterkeit führen zur Aufwertung des mit „Stevia“ gesüßten Zitronenkuchens

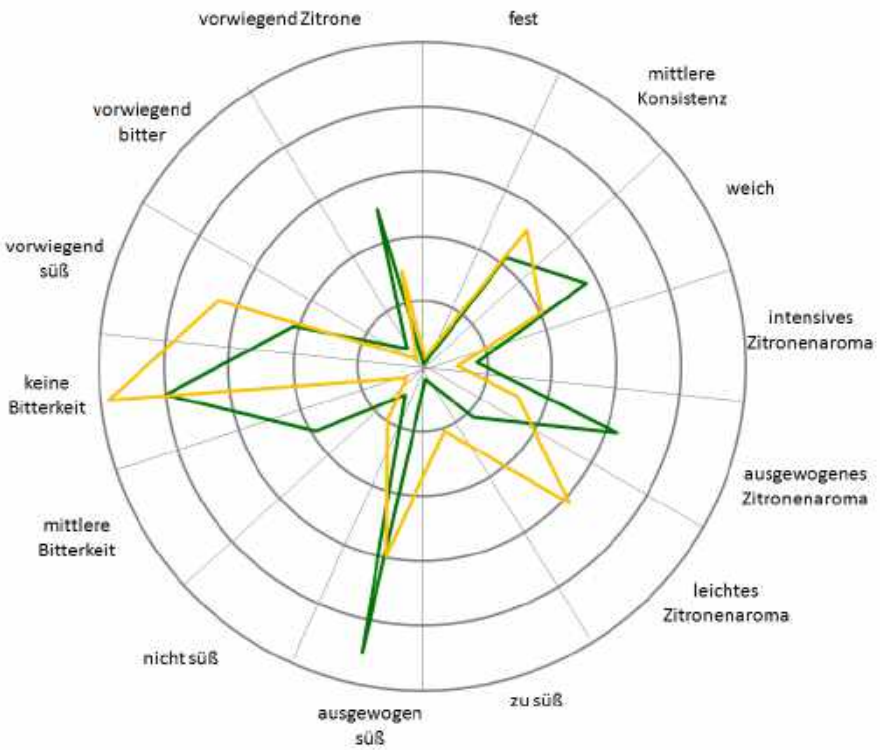


Abb 144 geschmackliche Gesamtbewertung der Placebo-Kuchen („Zucker“ in orange/ „Stevia“ in grün): ein Ring entspricht 20% der Testpersonen

Dem augenscheinlich mit Stevia gesüßten Kuchen wird vor allem die Charakteristik der Bitterkeit von einem Teil der Probanden zugeschrieben. Auf ähnliche Weise frappiert, dass die Annahme des Vorliegens unterschiedlicher Kuchen zu einer unterschiedlichen geschmacklichen Bewertung führt.

Auf Grundlage dieser Erkenntnis müssen die bisherig zubereiteten Speisen und deren Beurteilung relativiert werden. Es ist demnach nicht auszuschließen, dass der „Nachgeschmack von Stevia“ bis zu einem gewissen Grad idealtypisch auf Süßspeisen übertragen wird, weil das Süßungsmittel Steviosid-Pulver darin vermutet wird. In diesem Zusammenhang könnte die beschriebene geschmacksverstärkende Wirkung des Stevia-Süßstoffs im Vergleich zu Zucker ebenso teilweise dem Placebo-Effekt zu Grunde liegen. Ursächlich hierzu könnten gewohnte Geschmacksmuster von vorwiegend süßen Lebensmitteln mit Saccharose in Kombination mit der Vermutung geringerer Süßkraft eines Süßstoffs sein.

Aus den Beobachtungen zur Verwendung der Stevia-Süße in gesüßten Lebensmitteln resultiert, dass die Steviolglycoside der Stevia rebaudiana sicherlich ein Potenzial als Süßstoff mit natürlichem Ursprung für diejenigen darstellen, welche den Zuckerkonsum einschränken wollen oder müssen. Hinsichtlich des Geschmacks weist diese Alternative im Vergleich zu Zucker jedoch ersichtliche Defizite im Bezug auf Nachgeschmack und Bitterkeit bei unkorrekter Dosierung auf. Steviosid-Pulver oder ähnliche Produkte können verwendet werden, sofern dessen Menge und die Rezepte entsprechend angepasst werden.

Diese Folgerung bereitet bereits auf eine in diesem Zusammenhang essentielle Frage vor: Was geschieht mit den Steviolglycosiden nach dem Verzehr im menschlichen Körper? Wie wirken diese Verbindungen und welches Risiko kann es geben bzw. gibt es?

4.2 Stevia im menschlichen Körper

Die Frage nach der Unbedenklichkeit eines Süßstoffs steht bei der Verwendung künstlicher oder natürlicher Zuckeralternativen häufig im Vordergrund. Derzeit in Deutschland gängige synthetische Produkte sind immer wieder Gerüchten, Diskussionen, Halbwahrheiten und neuesten wissenschaftlichen Erkenntnissen ausgesetzt, welche dem Verbraucher ein eindeutiges Urteil erschweren. Auch der Zulassung der Steviolglycoside in der EU gehen zahlreiche Diskussionen und sich widersprechende Befunde bezüglich der Rolle im Stoffwechsel, möglicher und tatsächlicher Wirkungen im Körper und sich ergebender Risiken voraus.

4.2.1 Abbau der Steviolglycoside

Die Berichte über Abbauwege der Steviolglycoside im Körper lassen sich nicht auf ein prägendes Schema zusammenführen. Aus diesem Grund sollen drei mögliche Abbaupfade kurz vorgestellt werden.

4.2.1.1 Abbau über Steviolbiosid

Nach der Aufnahme der Süßstoffe in den Verdauungstrakt durchlaufen sie Magen und Dünndarm ohne zersetzt zu werden. Die Spaltung der ent-Kauren-Glycoside erfolgt im Dickdarm unter Einwirkung von Darmbakterien. Hierbei werden die Zuckerreste des Aglycons 13-Hydroxy-en-Kaur-16-en-19-säure fortschreitend entfernt und direkt im Dickdarm verwertet (Int8, Int23, Int43, Int44).

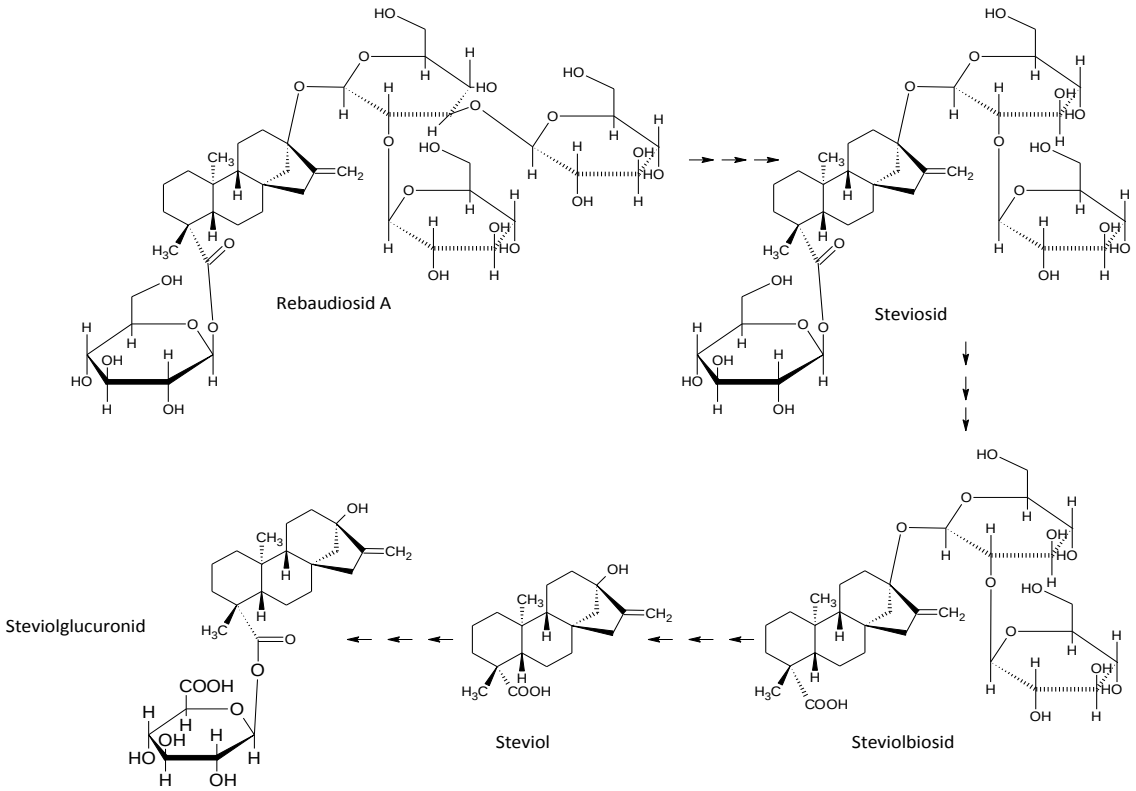


Abb 145 Schematisch-unvollständiger Abbau von Rebaudiosid A über Steviolbiosid

Ein wichtiges Zwischenprodukt im Abbau der Steviolglycoside Steviosid und Rebaudiosid A ist das Steviolbiosid. Das final freigesetzte Steviol wird über die Dickdarmwand aufgenommen und über die Pfortader zur Leber transportiert. Die Erhöhung der Wasserlöslichkeit erfolgt über die Bildung von Steviolglucuronid. Dieses wird ins Blut aufgenommen, von den Nieren wieder aus diesem filtriert und überwiegend über den Harn ausgeschieden. In kleinen Mengen werden Reste des Steviols über den Dickdarm und in sehr geringer Konzentration über die Nieren ausgeschieden. Auf ähnliche Weise durchlaufen auch enzymatisch veränderte Steviolglycoside (z.B. durch zusätzlich gebundenem Traubenzucker) den menschlichen Stoffwechsel (nach Int5, Int43, Int44, Int45).

4.2.1.2 Abbau über Rubusosid

Einer weiteren Annahme zur Folge werden die beiden wichtigsten Steviolglycoside im Dickdarm nicht über Steviolbiosid sondern Rubusosid und über Steviolmonoglucoside zum Aglycon abgebaut. Die Zersetzung von Rebaudiosid A erfolgt entweder über Steviosid oder Rebaudiosid B. Steviol wird mit Glucuronsäure gebunden und ausgeschieden (nach Int46).

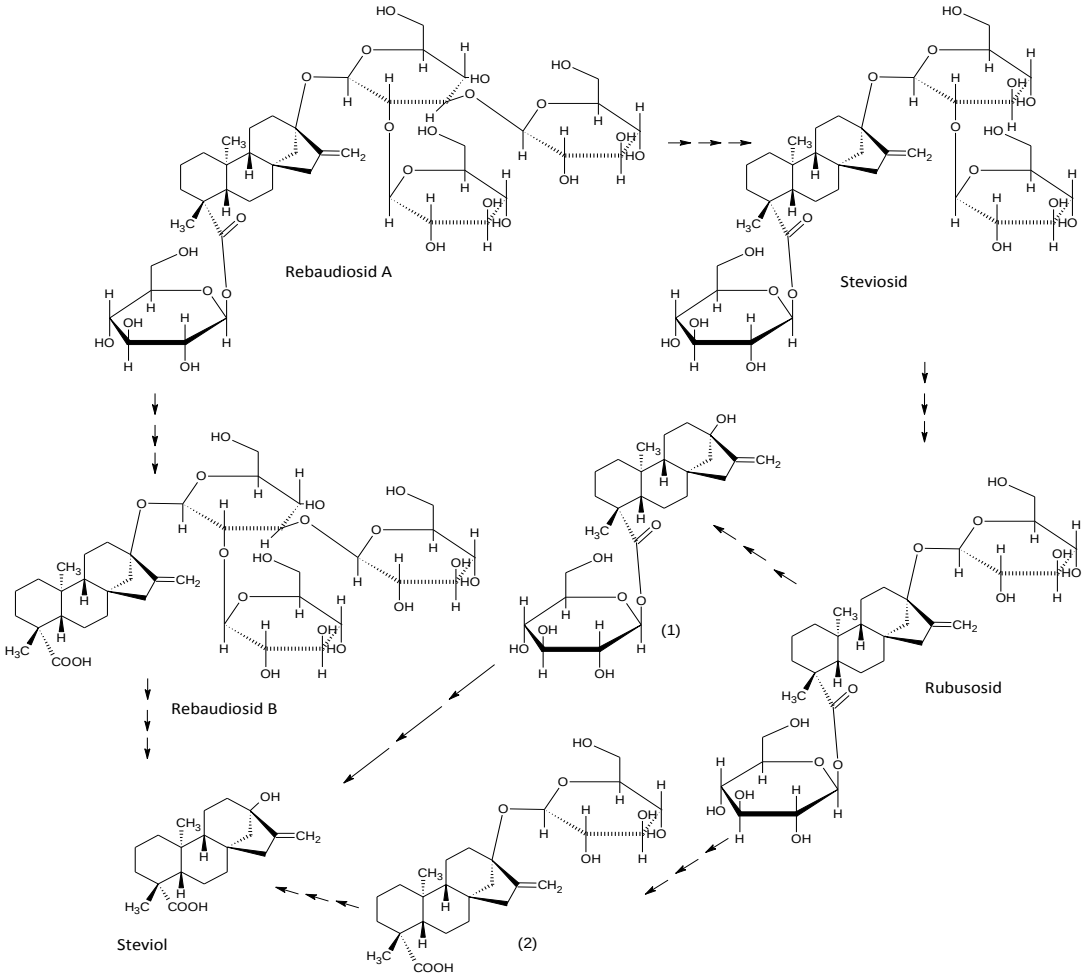


Abb 146 Schematisch-unvollständiger Abbau von Rebaudiosid A über Rubusosid, ent-Kaur-16-en-19-säure-19-β-D-glucopyranosyleser (1) und 13-β-D-Glucopyranosyl-ent-Kaur-16-en-19-säure (2)

4.2.1.3 Steviolglycoside im enterohepatischen Kreislauf

Die Grundlage der Erforschung des Steviolglycosid-Abbaus in Lebewesen geht auf Versuche an Ratten zurück. Den dabei gewonnenen Forschungsergebnissen zur Folge werden die Steviolglycoside weder im Magen noch im Dünndarm gespalten oder vom Körper aufgenommen, dann jedoch im Dickdarm zu Steviol zersetzt. Dieses wird aufgenommen, in der Leber mit Glucuronsäure konjugiert und liegt dann dort als wasserlösliches Steviolglucuronid vor. Über Galle und Gallenwege gelangt diese Verbindung zurück in den Darm und wird in der Folge wieder zu Steviol gespalten. Neben der Ausscheidung über den Dickdarm wird das Aglycon resorbiert und durchläuft den Leber-Darm-Kreislauf (enterohepatischer Kreislauf) mehrmals (nach Int42, Int44, Int47).

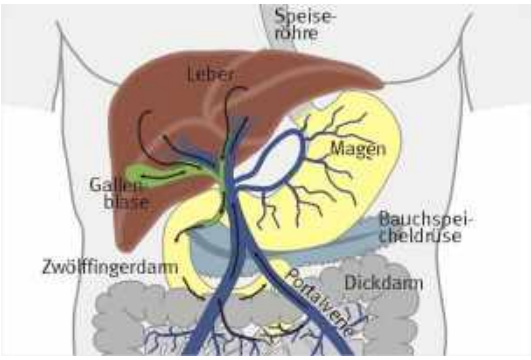


Abb 147 Schema des enterohepatischen Kreislaufs

Daraus ist zunächst geschlossen worden, dass die Ausscheidung des Stevia-Süßstoffs beim Menschen ebenfalls dem enterohepatischen Kreislauf unterliegt. Während jedoch Steviol (und in geringerem Maß Steviolglucuronid) bei Ratten vorwiegend im Kot, in geringen Mengen im Harn, gefunden worden ist, kann das mit Glucuronsäure gebundene Aglycon beim Menschen in höchster Konzentration im Urin nachgewiesen werden. Dies deutet darauf hin, dass die Verwertung der Steviolglycoside beim Menschen anders verläuft als bei Ratten, was die Grundlage der Leber-Darm-Zirkulation der Stevia-Süßstoffe beim menschlichen Stoffwechsel in Frage stellt (nach Int8, Int22, Int42, Int44).

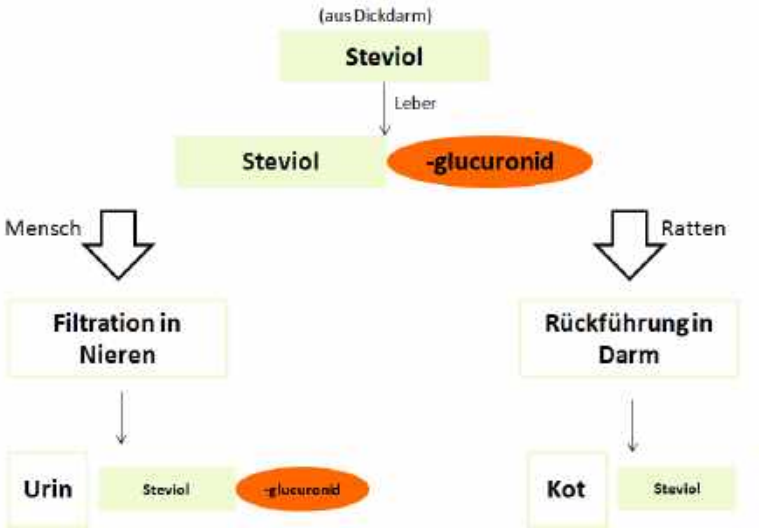


Abb 148 Ausscheidung der Steviolglycoside bei Mensch und Ratte

4.2.1.4 Weitere Theorien zum Stoffwechsel der Steviolglycoside

Neben den beschriebenen Annahmen des Stevia-Süßstoff-Abbaus müssen der Vollständigkeit halber zwei Vermutungen bezüglich des Stoffwechsels der süßen Inhaltsstoffe der Stevia rebaudiana dargelegt werden.

Eine zwar durch mehrere Versuche nicht bestätigte Theorie, welche jedoch hinsichtlich der gesundheitlichen Bewertung der Steviolglycoside von großer Bedeutung sein könnte, geht von der Bildung des Intermediats Steviol-16,17-epoxid aus. Diese Verbindung kann leicht mit nukleophilen Stoffen reagieren. Im Bezug auf die Desoxyribonukleinsäure könnte die Entstehung dieses Zwischenprodukts zu nicht vernachlässigbaren Folgen führen, zumal die DNS als Nukleophil reagieren kann (nach Int8, Int44).

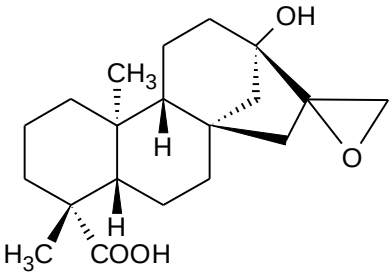


Abb 149 Steviol-16,17-epoxid

Weiterhin wird vom Nachweis von Steviolglycosiden direkt im Blut nach oraler Einnahme berichtet. Dies hat zur Folge, dass entgegen der bisherigen Annahme die Süßstoffe in ihrer ursprünglichen Form bereits im Dünndarm ins Blut aufgenommen werden. Inwiefern dies die (theoretische) Wirkung der Steviolglycoside im menschlichen Körper beeinflusst, kann an dieser Stelle nicht begründet dargestellt werden (nach Int42).

4.2.2 Wirkung der Süßstoffe im Körper

Die Verwendung der Steviolglycoside als Zuckeraustauschstoffe wird vor allem für diejenigen Menschen empfohlen, welche an der Candidose-Krankheit (Candida albicans), Diabetes melliticus, Zucker- und Sorbitunverträglichkeit leiden. Des Weiteren sei der Stevia-Süßstoff für Mukoviszidose-, Neurodermitis- und Phenylketonurie-Patienten geeignet. Auf Grundlage der langjährigen Verwendung von Stevia-Blättern in Paraguay und Brasilien wird von einer nur in geringem Maß auftretenden allergischen Reaktion gegenüber den Steviolglycoside ausgegangen. Dem gegenüber stehen eine Reihe angeblicher, z.T. positiver Wirkungen, welche der südamerikanischen Staude ein wahres Image als Wunderpflanze bescheren. In der Folge sollen dem Stevia-Süßstoff zugesprochene Wirkungen im Körper dargestellt werden. Dabei wird darauf hingewiesen, dass die genannten Effekte zum Teil durch sich widersprechende Studien verifiziert und falsifiziert worden sind. Häufig fehlt eine einheitliche, wissenschaftliche Betrachtung und Bestätigung der genannten Theorien völlig (nach Lit1, S.46; Int1, Int6).

Den Steviolglycosiden (v.a. Steviosid) wird eine antioxidative Wirkung nachgesagt, welche sich in der Bindung freier Radikale zeige. Darüber hinaus werde durch die Diterpenglycoside Steviosid und Steviolbiosid sowie die Aglycone Isosteviol und Steviol die oxidative Phosphorylierung verschiedener Enzyme (z.B. ATPase) gehemmt (nach Int4, Int5).

In diesem Zusammenhang kann auch die Dämpfung der Immunreaktion genannt werden. Demnach schwäche Steviosid die Bildung von entzündungsfördernden Stoffen ab und wirke z.B. dem für Allergien, Rötungen und Juckreiz verantwortlichem Histamin entgegen. Zusammen mit der angenommenen antimikrobiellen, antibakteriellen, antiviralen und fungiziden Wirkung von Stevia-Extrakten legt dieser positive Faktor die Basis für den traditionellen Einsatz der pflanzlichen Extrakte zur Wundheilung (nach Lit1, S.33; Int8).

Ursprünglich ist das „Heilmittel“ Stevia rebaudiana neben dem genannten Einsatzgebiet vorwiegend zur Senkung des Blutdrucks und als herzstärkendes Mittel verwendet worden. Während die Blutwerte selbst durch die Steviolglycoside nicht beeinflusst werden, wird angenommen, dass die Verbindungen die Aufnahme von Ca^{2+}-Ionen in die Blutgefäße einschränken und dadurch zu einer Gefäßerweiterung führen. Studien mit hohen Süßstoff-Dosen bei an hohem Blutdruck leidenden Testpersonen scheinen die daraus hervorgehende blutdrucksenkende Wirkung zu belegen. Bei geringen Probandenzahlen sei der Effekt jedoch nicht zu beobachten. Es lassen sich gleichermaßen Vermutungen über die Stärkung von und negative Auswirkungen auf Herz und Gefäße formulieren (nach Lit1, S.33; Int4, Int5, Int6, Int8).

Als ähnlich umstritten wie die Senkung des Blutdrucks gelten die Effekte auf den Blutzuckerspiegel und die Insulinsekretion. Hierbei treffen unterstützende und

ablehnende Meinungen und Ergebnisse bezüglich dieses Themas direkt aufeinander. Zum einen scheinen Studien an Diabetes-Patienten (Diabetes melliticus Typ 2) die blutzuckersenkende Wirkung von Steviosid zu bestätigen, zum anderen sei dieser Effekt bei gesunden Menschen nicht zu beobachten. Die dosisabhängige Senkung der Traubenzuckerkonzentration im Blut durch diesen Süßstoff sowie die Stimulation der Insulin-Sekretion bleiben deshalb in der Diskussion. Als undurchsichtig erweist sich ebenso, ob und inwiefern die Insulinverwertung im Körper durch den Stevia-Süßstoff verbessert wird (nach Int3, Int4, Int5, Int8).

In Ergänzung soll Steviosid den Glucose- und Fructose-Transport durch die Zellmembran hemmen und den langkettiger Fettsäuren ebenfalls beeinträchtigen. Auch wird über eine harntreibende Wirkung der Steviolglycoside sowie deren vermutete Eigenschaft, in Form von Stevia-Extrakt Osteoporose vorzubeugen, berichtet (nach Int3, Int8).

Abb 150 Kariesbefall an Zähnen durch übermäßigen Zuckerkonsum

Als weitgehend gesichert gilt, dass durch mit Steviolglycosiden gesüßte Lebensmittel im Vergleich zu Zucker und anderen Süßstoffen die Plaquebildung an den Zähnen vermindert wird (nach Lit1, S.47; Int3).

Bezüglich der Verwendung zur Gewichtsreduktion und –kontrolle lassen sich die Einflüsse auf die verminderte Kalorienzufuhr gegenüber dem Süßen mit Saccharose zurückführen. Spezifische Effekte auf den Stoffwechsel können in dieser Hinsicht nicht aufgeführt werden.

Die Süßstoffe der Stevia rebaudiana sind im Vergleich zu Aspartam, Cyclamat oder Saccharin Verbindungen natürlichen Ursprungs. Dennoch ist der Zulassung der Steviolglycoside eine den synthetischen Süßstoffen ähnliche Diskussion über die gesundheitliche (Un-)Bedenklichkeit vorausgegangen.

4.2.3 Stevia – zuckerfrei und sorgenfrei?

Bis zur Zulassung vor einem Jahr (November 2011) sind den Süßstoffen der Stevia rebaudiana im Wesentlichen zwei grundlegende Kritikpunkte vorgeworfen worden: eine mögliche krebserregende Wirkung sowie empfängnisverhütende Eigenschaften. Obwohl die Diskussion über negative Folgen der Diterpenglycoside inzwischen weitgehend verebbt ist, wird in der Gegenwart vor allem die „Natürlichkeit“ der Steviolglycoside angeprangert, welche durch intensiv-chemische Verfahren aus der Pflanze gewonnen werden (nach Int38).

Aus der vorhergehenden Beschreibung der Wirkungen des Süßstoffs im Körper geht hervor, dass durch die Hemmung freier Radikale Krankheiten vorgebeugt werden könnten. Dem entgegen steht jedoch die These, die Steviolglycoside seien mutagen. Untersuchungen an Salmonella typhimurium TM 677 legen in mehreren Befunden einen schwach mutagenen Einfluss des Süßstoff-Aglycons Steviol offen. Diese Erkenntnis lässt sich jedoch nicht auf weitere Salmonella-Kulturen oder andere Bakterien übertragen. Die Mutagenität des Steviols wird einerseits auf die Hydroxygruppe am C13-Atom zurückgeführt, da weder ent-Kaur-16-en-19-säure selbst noch an C-13 acetyliertes Steviol vergleichbare Effekte zeigen. Zum anderen wird häufig die C-C-Doppelbindung als ursächlich für mutagene Effekte genannt. Daraus ergibt sich die Frage, inwieweit das schädigende Potenzial tatsächlich beim Verzehr der Steviolglycoside bemerkbar wird. Während im Blut von Nagetieren ent-Kaur-16-en-19-säure selbst gefunden wird, fehlen entsprechende Belege bei Versuchen mit Schweinen und Hühnern. Beim Menschen befindet sich das Aglycon im Blut höchstwahrscheinlich in als Steviolglucuronid gebundener Form, wobei die C-13-Hydroxygruppe und die Doppelbindung ungebunden sind (nach Int3, Int4, Int5, Int6, Int8).

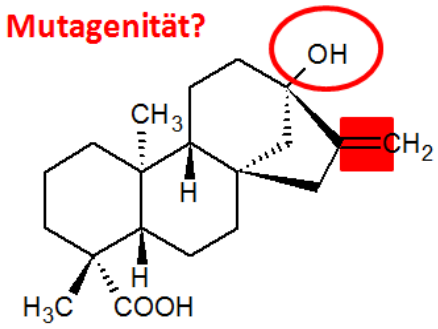


Abb 151 mögliche Zentren mutagener Wirkung

Inzwischen scheinen verschiedene Studien an Tieren (v.a. Ratten) zu bestätigen, dass die Aufnahme von Steviolglycosiden in moderaten Mengen zu keinem spezifisch erhöhten Krebsrisiko führt. Aber auch hier gilt, wie bei den bereits beschriebenen Effekten der Diterpenglycoside auf den menschlichen Körper, dass verschiedene Untersuchungen gegensätzliche Meinungen widerspiegeln. Demnach können sehr hohe Konzentrationen durchaus cancerogen sein. Zumindest soll es ausgehend von Steviosid oder Steviol keine direkte Reaktion mit den Erbanlagen (DNS) geben und das Tumorwachstum nicht begünstigt werden. Dennoch können die Befunde aus Tierversuchen aufgrund der unterschiedlichen Verwertung der Steviolglycoside im menschlichen und tierischen Körper, wie vorhergehend beschrieben, nur vage auf den menschlichen Metabolismus übertragen werden (nach Lit1, S.60; Int5, Int6).

1968 veröffentlichen die Forscher Planas und Kuc eine frappierende Studie: Stevia sei als Verhütungsmittel von Guarani-Indianerinnen traditionell genutzt worden und besitze tatsächlich entsprechende Eigenschaften. Zu ähnlichen Erkenntnissen sollen Versuche mit Hamster geführt haben. Dem wird entgegen gestellt, dass in Hamstern Stoffwechselprodukte vorkommen, welche beim Abbau der Steviolglycoside im menschlichen Körper nicht auftreten. Gegenwärtig sei der Befund über Stevia als Kontrazeptivum durch weitere Untersuchungen in Frage gestellt und widerlegt worden. So seien auch Experimente an Hamstern durchgeführt worden, bei denen bis zu einer Konzentration von 2500mg/kg Körpergewicht keine Beeinflussung des Wachstums und der Fortpflanzung ersichtlich gewesen sei (nach Int3, Int4, Int5, Int8).

Ähnlich kritisch können die negativen Auswirkungen auf die männliche Fruchtbarkeit betrachtet werden. Bei Verabreichung eines konzentrierten Stevia-Rohextrakts über einem Zeitraum von 60 Tagen an noch nicht geschlechtsreife, männliche Ratten sollen gemäß Untersuchungen die Masse der Samenblase sowie die Spermakonzentration in den Nebenhoden sinken. Gemäß neueren Erkenntnissen sollen die Steviolglycoside bei der Verwendung in angepassten Mengen als Süßungsmittel jedoch diesen Einfluss nicht aufweisen (nach Lit1, S.58; Int5)

Wie bei (fast) allen Verbindungen gilt demzufolge auch für die Diterpenglycoside das tradierte Sprichwort „die Dosis macht das Gift“. Mit der Empfehlung einer Tageshöchstmenge von 4 mg Stevioläquivalente je Kilogramm Körpergewicht (entspricht ca. 10 mg Steviosid je Kilogramm Körpergewicht pro Tag) schafft deshalb die EFSA (European Food Safety Authority) im Jahr 2010 einen klareren Standpunkt bezüglich mutagener und cancerogener Effekte des Süßstoffs (nach Int22, Int38, Int48).

Genauso wie bei anderen, schon länger zugelassenen Süßungsmitteln ist aus der Diskussion um die Sicherheit und Unbedenklichkeit bezüglich gesundheitlicher Fragen kein klares Fazit für oder gegen die Stevia-Süße zu ziehen. Auf Grundlage der EU-weiten Legalisierung des Lebensmittelzusatzstoffs E 960 (Steviolglycoside) kann bei den diversen Produkten mit Stevia schließlich nur auf eine qualitativ hochwertige und ausreichend erforschte Zuckeralternative vertraut werden.

Abb 152 Stevia - ja oder nein?

5 SÜSSE POTENZIALE FÜR EINE PFLANZE ?

Die Genehmigung der Steviolglycoside als Lebensmittelzusatzstoffe bei einer Mindestreinheit von 95% bringt in Deutschland zahlreiche neue Produkte hervor. Doch auch nach dem 11. November 2011 ist die Pflanze selbst für die Verwendung als Nahrungsmittel noch nicht zugelassen. Dem ungeachtet scheinen sich für das paraguayische Honigraut außerhalb des Nahrungsmittelsektors eine Vielzahl an Möglichkeiten zu ergeben (nach Int22).

5.1 Produkte mit Stevia-Süße auf dem Markt

In Europa haben die Verbraucher über 20 Jahre hinweg auf die Legalisierung der Steviolglycoside warten müssen. Auf internationaler Ebene hängt das Angebot an Produkten mit Steviolglycosiden oder Stevia-Extrakten zunächst von den gesetzlichen Rahmenbedingungen ab. Derzeitige Hauptverbraucher sind Japan, China, Korea, Paraguay und Brasilien. Seit 2008 sind die Steviolglycoside als Lebensmittelzusatzstoffe auch in den USA zugelassen, jedoch sind sie insgesamt in asiatischen Ländern stärker etabliert als in der westlichen Welt. Nach der beschränkten Zulassung in Frankreich im Jahr 2009 etabliert sich seit knapp einem Jahr auch in Deutschland der Markt an Diterpenglycosiden (nach Int3, Int7, Int38, Int49).

Abb 153 Formen käuflicher Stevia-Süßstoffe

Als Süßstoff sind Extrakte der Stevia rebaudiana in verschiedenen Formen erhältlich. Während Stevia-Blätter, Stevia-Blatt-Pulver oder der Rohextrakt in Deutschland als Süßungsmittel noch nicht zugelassen sind, greifen andere Länder z.B. in Südamerika vorwiegend auf diese Produkte zurück. Erlaubt sind in Deutschland die über einen Wert von 95% gereinigten Blattextrakte sowie deren Mischung mit verschiedenen Trägerstoffen zur Vereinfachung der Dosierung. So enthalten Stevia-Tabs oder Stevia-Packets häufig neben den Diterpenglycosiden Laktose und Maltodextrin. Eine Stevia-Tablette entspricht dabei in etwa der Süßkraft von einem Würfel Saccharose (nach Lit1, S.109; Int15).

Aufgrund der vorgegebenen maximalen Tagesdosis können in vielen Produkten Saccharose oder andere Süßungsmittel nicht vollständig durch den Stevia-Süßstoff substituiert werden. Verschiedene Backwaren, Desserts und Süßigkeiten können zum Teil nur zu einem Drittel mit Stevia-Extrakten gesüßt werden, damit der empfohlene Maximalwert nicht überschritten wird. Die EU-Kommission hat hierzu einen Vorschlag unterbreitet, welche Höchstmengen in bestimmten Lebensmitteln eingesetzt werden dürfen. Der mögliche Verzehr von Stevia-Produkten soll an einem konkreten Beispiel erläutert werden (Int7, Int22, Int38).

Geg: Erwachsener (80 kg) und Kind (30 kg)

Nahrungsmittel	**(max.) Menge an Stevioläquivalenten**
Schokolade	270 mg/kg
Müsli	330 mg/kg
Limonade	80 mg/L
Joghurt	100 mg/kg

Tab 10 mit Stevia gesüßte Nahrungsmittel

Ges: maximale Mengen an Stevia-Produkten

Lsg: maximal empfohlene Tagesdosis an Stevioläquivalenten: 4mg/kg Körpergewicht

	Erwachsener (80 kg)	Kind (30 kg)
maximale Steviolglycosid-Mengen	$80\ kg \cdot 4\frac{mg}{kg} = 320\ mg$	$30\ kg \cdot 4\frac{mg}{kg} = 120\ mg$

Menge der Steviolglycoside in Portionen der Nahrungsmittel:

50g Schokolade	$0{,}05\ kg \cdot 270\frac{mg}{kg} = 13{,}5\ mg$
150g Müsli	$0{,}15\ kg \cdot 330\frac{mg}{kg} = 49{,}5\ mg$
1,5L Limonade	$1{,}5\ L \cdot 80\frac{mg}{L} = 120\ mg$
200g Joghurt	$0{,}2\ kg \cdot 100\frac{mg}{kg} = 20\ mg$
Gesamtmenge	203 mg

Tab 11 Höchstmenge und verzehrte Menge an Stevioläquivalenten

Aus der Betrachtung der (theoretisch) errechneten, maximalen Aufnahmemenge an Stevioläquivalenten für zwei Personen mit 30 bzw. 80 kg Körpergewicht ergibt sich bei realistischen Mengen an verzehrten Lebensmitteln folgende Erkenntnis:

→ beim Erwachsenen: 203 mg < 320 mg (Maximalwert)

→ beim Kind: 203 mg > 120 mg (Maximalwert)

Die Höchstmenge wird bei der leichteren Person (30kg) deutlich überschritten. Bereits eine große Flasche mit Steviolglycosiden gesüßter Limonade reicht z.B. bei Kindern aus, um den täglichen Grenzwert zu erreichen. Daraus lässt sich insbesondere ableiten, dass die vollständige Substitution von Zucker in süßen Lebensmitteln ohne Überschreitung des Maximalwerts kaum realisierbar ist.

Neben den reinen bzw. mit Trägerstoffen versetzten Steviolglycosiden können in Deutschland nach einem Jahr der Zulassung verschiedene Nahrungsmittel mit der Stevia-Süße erworben werden. Einige bekannte Produkte umfassen Stevia-Joghurt, Stevia-Konfitüre oder Stevia-Bonbons.

Abb 154 Produkte mit Steviolglycosiden auf dem (deutschen) Markt

Trotzdem reichen die Verwendungsmöglichkeiten von Stevia-Extrakten und Steviolglycosiden über den Nahrungsmittelsektor hinaus. Bevor die süßen Verbindungen offiziell zur Ernährung zugelassen worden sind, sind sie bereits auch in Deutschland auf anderem Wege verkauft und verwendet worden.

5.2 Anwendungsgebiete des Honigblatts

Während die Beimischung der Diterpenglycoside in Lebensmitteln vorwiegend der Süßung der Produkte gilt, kann auch die geschmacksverstärkende Wirkung (z.B. Intensivierung des Kräutergeschmacks oder Aromen) ein Grund für den Einsatz dieser Lebensmittelzusatzstoffe sein. Alternative Anwendungsmöglichkeiten bieten Körperpflegeprodukte, Kosmetika und Tierfuttermittel (nach Lit1, S.50f; Int3).

Letzterer Aspekt bezieht sich auf Berichte aus Paraguay, denen zufolge durch Zugabe von Stevia-Extrakten in das Futter von Rindern bessere Milch und besseres Fleisch erhalten werden könne. Ähnliches soll für Schweinefleisch gelten, welches durch den Einsatz von Stevia rebaudiana schmackhafter werde. Ebenso sollen die Schalen von Eiern härter werden, sofern den Hühnern Stevia-Extrakt gefüttert wird (nach Lit1, S.51).

Aufgrund der plaquehemmenden und antimikrobiellen Wirkung finden Extrakte der Stevia rebaudiana in der Mund- und Zahnpflege Anwendung (nach Int3).

Abb 155 Zahnpasta mit Stevia

Eine Maske aus Heilerde und Stevia-Blatt-Pulver sollen gegen Ekzeme, Herpes simplex und Schuppenflechte wirken. Der Zusatz von Blatt-Pulver zu Shampoos soll aufgrund der Mineralstoffe der Stevia-Blätter intensiv pflegen (nach Lit1, S.50).

In Ergänzung zu den beschriebenen Möglichkeiten, das südamerikanische Süßkraut zu nutzen, soll das im Rahmen der Seminararbeit erworbene Wissen über die süßen und nicht-süßen Inhaltsstoffe der Stevia rebaudiana auf einen weiteren Alltagsbereich übertragen werden.

5.3 (Süß)Kraft aus grünen Blättern

Wohingegen die Süßkraft der Blätter und deren Bestandteile in vorhergehenden Abschnitten ausführlich erläutert und diskutiert worden sind, soll nun der auf den geschmacklichen Nutzen der Steviolglycoside eingeschränkte Blickwinkel ausgeweitet werden.

Materialien und Geräte: Kochtopf, Geschirrtuch, Löffel, Becherglas, Eindampfschale, Holzstäbchen, Holz- und Korkstücke, Bastelkarton, Karton

Chemikalien: Stevia-Blätter, Steviosid-Pulver [95%; VitaNatura.de]

Aufbau und Durchführung:

Abb 156 Aufbau zum Klebstoff-Versuch

(1) Aus den Stevia-Blättern wird nach dem im Abschnitt 3.2.2.1 beschriebenen Verfahren ein eingedickter, wässriger Rohextrakt hergestellt. Durch Lösen von mehreren Löffeln Steviosid-Pulver in Wasser wird ebenso eine konzentrierte Steviolglycosid-Lösung hergestellt.

(2) Als Vorversuch werden mehrere Papierstücke mit der Steviosid-Lösung bestrichen und aneinander gedrückt.

(3) Der konzentrierte Rohextrakt wird auf die zu klebenden Flächen aufgetragen und die Klebstellen kurz aneinander gedrückt.

Zur Untersuchung der Fähigkeit der Steviolglycoside, als Klebemittel zu agieren, wird die Klebkraft an verschiedenen Materialien untersucht.

Beobachtungen und Auswertung:

Steviosid-Pulver-Lösung

- Haftung der Papierstücke aneinander
  → Bindung der Papierstücke durch zwischenmolekulare Kräfte (Wasserstoff-Brücken, Dipol-Dipol- und Van-der-Waals-Kräfte)
- Zunahme der Klebkraft mit der Konzentration der Steviolglycosid-Lösung
  → mehr bindende Steviolglycosid-Moleküle zwischen dem Papier

Abb 157 aufgeklebtes Papier

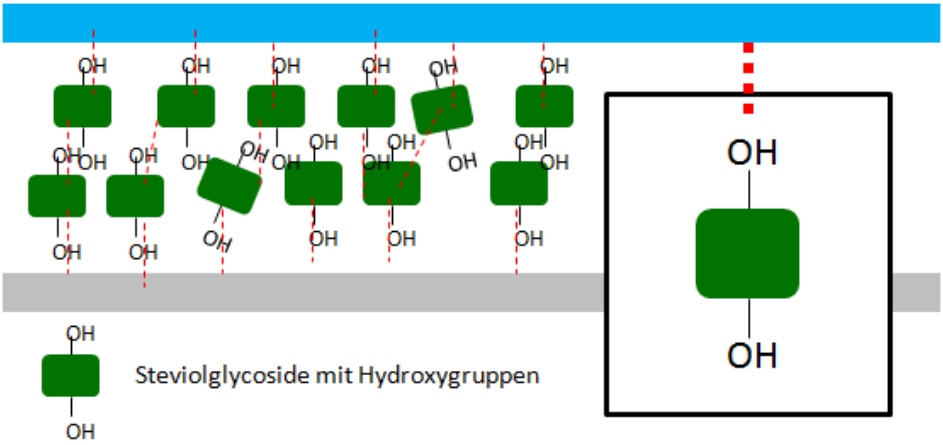


Abb 158 Modell zum Kleben verschiedener Einzelteile durch Bindung zwischenmolekularer Kräfte (rot: H-Brücke)

Stevia-Rohextrakt (eingedickt)

- rasche Trocknung und Härtung des zähflüssigen Rohextrakts nach dem Auftragen auf Holz, Karton, etc.
  → Verdunstung von Wasser
- Haftung von Papier, Karton, Holz und Kork aufeinander
  → starke zwischenmolekulare Kräfte des Rohextrakts zu den Materialien

Abb 159 mit Stevia-Rohextrakt geklebte Materialien

Aufgrund der starken zwischenmolekularen Kräfte der Steviolglycoside untereinander (H-Brücken, Dipol-Dipol-Wechselwirkungen und VdW-Kräfte) und zu den geklebten Oberfläche haften die verschiedenen Materialien fest aneinander.

So kann den Steviolglycosiden eine weitere Eigenschaft hinzugefügt werden. Neben ihrer herausragenden Süßkraft sind die Diterpenglycoside auch als „Kleber“ nutzbar. Aus frischen oder konservierten Blättern kann auf einfache Weise eine klebende Substanz, welche frei von synthetischen Produkten und ungesunden Lösungsmitteln ist, gewonnen werden. Der „Bio-Kleber“ stellt dabei nichts anderes als eine zum Süßen verwendbare Form des Blattauszugs dar.

Mit dem hier unternommenen Schritt, die Pflanze Stevia rebaudiana von dem rein auf die Nutzung ihrer Süßstoffe reduzierten Interesse zu lösen, können die pflanzlichen Syntheseprodukte in ein neues Licht gerückt werden. Insbesondere könnten sich durch explizite Forschungen bisher nicht beachtete Einsatzmöglichkeiten für die pharmazeutische Chemie ergeben.

Im Rahmen dieser Seminararbeit ist nur ein kleiner Ausschnitt des möglichen Potenzials der Pflanze beleuchtet worden. Die grundlegenden Erkenntnisse zum Thema *„Stevia – Süßes Gold aus grünen Blättern?“* sollen abschließend zusammengeführt werden.

6 ZUSAMMENFASSUNG DER SEMINARARBEIT „STEVIA– SÜSSES GOLD AUS GRÜNEN BLÄTTERN ?“

Die im Rahmen des W-Seminars „Zuckersüße Chemie“ erstellte Seminararbeit *„Stevia – Süßes Gold aus grünen Blättern?“* beschäftigt sich mit den theoretischen und praktischen Grundlagen des Anbaus der Pflanze *Stevia rebaudiana*, den als Süßstoffe nutzbaren Blattbestandteilen, dem Nachweis und der Gewinnung dieser Verbindungen sowie deren Verwendung als Lebensmittelzusatzstoff.

Die im Grenzgebiet zwischen Paraguay und Brasilien beheimatete Stevia rebaudiana (Bertoni) Hemsly wird gegenwärtig vor allem in asiatischen Ländern und Südamerika kultiviert und genutzt. Durch die EU-Zulassung des Süßstoffs aus den Blättern der Pflanze im November 2011 weitet sich die Nutzung auf Europa aus. Mit dem Ziel, die Eignung des, auch als Honigkraut bekannten, Gewächses für süddeutsche Klima- und Bodenbedingungen zu überprüfen, werden Stevia-Pflanzen aus Samen gezogen und im Gewächshaus, im Beet und im Topf kultiviert. Aus der ergänzenden Variation von drei Düngemitteln geht hervor, dass die Stauden über die Sommermonate hinweg sehr gut im freien Beet bei Düngung mit Pferdemist gedeihen. Aus den angesäten Pflanzen lassen sich durch die Stecklingsvermehrung leicht Jungstauden ziehen, wohingegen Markottagen schwerer, die Meristemvermehrung für die private Kultur der Stevia rebaudiana nicht zu realisieren sind. Die Ernte und anschließende Trocknung bzw. Tiefkühlung der Blätter führt zur Gewinnung der als Steviolglycoside bezeichneten, süßen Inhaltsstoffe des Honigkrautes.

Die, nach dem Biosyntheseweg der Terpene gebildeten, pflanzlichen Süßstoffe leiten sich vom Aglycon 13-Hydroxy-ent-Kaur-16-en-19-säure ab, an welches im Wesentlichen β-D-Glucose und α-L-Rhamnose in Form einer Ester- oder glycosidischen Bindung gebunden sind. Bei der Gewinnung des Süßstoffs aus den Blättern erfolgt die nötige Reinigung von weiteren organischen Verbindungen von der Mazeration bis zur Kristallisation über mehrere Schritte und führt zu den Molekülen Steviosid, Rebaudiosid A bis E und Dulcosid A. Die Steviolglycoside werden durch die Untersuchung eines Stevia-Blattes und Blattextrakts mit dem Lichtmikroskop sowie durch zwei vergleichende Dünnschichtchromatographien von anderen Verbindungen abgegrenzt und nachgewiesen. Der Rohextrakt aus den Blättern des Honigkrauts wird über verschiedene Methoden gereinigt, wobei ein traditionelles Verfahren zum gewünschten, gereinigten Steviolglycosid-Pulver führt. Im Versuch wird die Stabilität der Süßstoffe in wässrigen Lösungen unterschiedlicher pH-Werte bestätigt und deren Zersetzung beim Kochen und unter Einwirkung von Enzymen dargestellt.

Die dem Geschmack von Saccharose ähnlichen Verbindungen der Stevia rebaudiana werden in der Folge zur Herstellung verschiedener Süßspeisen eingesetzt, deren Geschmack von Testpersonen sehr unterschiedlich bewertet wird. Aufgrund der bis zu dreihundertfachen Süßkraft gegenüber Zucker, einem charakteristischen Nachgeschmack und Bitterkeit bei Überdosierung wird festgestellt, dass die Steviolglycoside zur Herstellung von herkömmlich mit Saccharose gesüßten Lebensmitteln nur bedingt geeignet sind. Nach der Aufnahme in den menschlichen Körper werden die Süßstoffe auf das Aglycon Steviol rückgeführt, welches über mehrere Zwischenschritte ausgeschieden wird. Neben der Senkung des Blutdrucks und Blutzuckerspiegels sollen die Steviolglycoside Entzündungen und die Plaquebildung an den Zähnen hemmen. Wie weitere natürliche und synthetische Süßstoffe, stehen die süßenden Bestandteile der paraguayischen Pflanze im Verruf, mutagen, cancerogen und empfängnisverhütend zu sein.

Durch die Legalisierung des reinen Süßstoffs der Stevia rebaudiana in der EU etabliert sich auf einem weiteren Kontinent der Markt an Stevia-Produkten. Dabei bleibt die Verwendung der Süßstoffe nicht allein auf den Nahrungsmittelsektor beschränkt. Als Kosmetika oder „Bio-Klebstoff“ lassen sich die Blattextrakte gleichermaßen nutzen.

Da Anbau und Nutzung der Stevia rebaudiana im europäischen Raum gerade erst begonnen haben, kann der südamerikanischen Staude ein nicht unerhebliches Zukunftspotenzial zugeschrieben werden.

7 REFLEXION ÜBER DIE SEMINARARBEIT

Bereits vor der Wahl des W-Seminars Chemie hat mich das an Bedeutung und öffentlichem Interesse gewinnende Honigkraut aus Südamerika aufgrund der Süße seiner Blätter für sich eingenommen. Mein Vorhaben, die optisch unscheinbare Pflanze aus Paraguay zum Thema meiner Seminararbeit zu machen, ist durch den entsprechenden Titel des angebotenen Seminars „Zuckersüße Chemie“ bekräftigt worden, denn „zuckersüß“ sind die Blätter der Stevia rebaudiana wirklich. Was mit einer ersten Pflanze im Sommer 2011 begonnen hat, findet sich nun gesammelt in der vorliegenden Seminararbeit wieder.

Der eigene Anbau, die Kultur der Stevia rebaudiana und deren Vermehrung über Stecklinge haben sich ohne nennenswerte Schwierigkeiten umsetzen lassen. Gleiches gilt für die Herstellung von Lebensmitteln mit dem Süßstoff des Honigkrauts. Besonders interessant war und ist, die einzelnen Schritte von der Keimung eines Saatkorns wahrlich bis zur Verwendung des aus der Pflanze gewonnenen Süßstoffs selbst durchzuführen und zu erfassen.

Als Herausforderung in Theorie und Praxis haben sich vor allem die Beschreibung, die Analyse und die Gewinnung der Blattbestandteile der Staude erwiesen. Da zum Zeitpunkt des Beginns der Seminararbeit (parallel zur EU-Zulassung der Steviolglycoside im November 2011) kaum aus chemisch-wissenschaftlicher Sicht wertvolle, deutschsprachige Literatur verfügbar war, hat sich die Recherche zum Thema Stevia zunächst als schwierig herausgestellt. Damit einher ist in gewisser Weise die Scheu vor der ausführlichen Beschäftigung mit der „Chemie“ der Stevia auf Basis englischer Journal- und Buchauszüge gegangen, welche mich zunächst vor dem tiefer greifenden, chemischen Teil der Seminararbeit zurückschrecken ließ. Je mehr ich jedoch über die Steviolglycoside gelesen hatte, desto weniger unnahbar erwiesen sich die Moleküle mit den nur scheinbar komplizierten Namen 13-(2-O-β-D-Glucopyranosyl-β-D-glucopyranosyloxy)-ent-Kaur-16-en-19-säure-β-D-glucopyranosylester oder 13-(3-O-β-D-Glucopyranosyl-2-O-β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranosyloxy)-ent-Kaur-16-en-19-säure-β-D-glucopyranosylester.

Dass die Seminararbeit den Nachweis dieser Verbindungen mittels Dünnschichtchromatographie beinhalten sollte, stand für mich mit Wahl des Themas *„Stevia – Süßes Gold aus grünen Blättern?“* ebenso wie die Extraktion der Süßstoffe aus den Blättern von Anfang an fest. Hierbei lag aber dann auch die Kernschwierigkeit, denn die farblosen Verbindungen zum einen sichtbar zu machen und zum anderen von anderen organischen Stoffen abzutrennen, ist nicht bei den ersten Versuchen gelungen. Die bis zum Erzielen des gewünschten Ergebnisses siebenmal durchgeführte Dünnschichtchromatographie mit wässrigem Stevia-Extrakt hat mir ebenso wie die nach mehreren, erfolglosen Reinigungsversuchen final doch gelungene Gewinnung des Süßstoffs aus den Blättern eine wichtige Erkenntnis offen gelegt: das Scheitern eines

ersten Experiments ist grundlegend notwendig, damit man sich mit einem Thema erst intensiver auseinandersetzt. So stellt zwar die selbst extrahierte Mischung pflanzlicher Stoffe bei weitem nicht den reinen, käuflichen Süßstoff dar, aber dennoch ist das Ergebnis dieses Experiments in Anbetracht der durchgeführten, im Vergleich zur industriellen Reinigung simplen Schritte durchaus positiv wahrzunehmen.

Dass die fertige Seminararbeit die obligatorischen 15 Seiten in ihrem Umfang schließlich weit überschreitet, ist für mich weniger Überraschung als Notwendigkeit. Das gewählte Thema ist so vielfältig und umfasst so viele verschiedene Bereiche, von denen sich in der vorliegenden Arbeit (leider) nur ein kleiner Ausschnitt zeigen lässt.

Für mich persönlich steht trotzdem fest, dass mich das südamerikanische Honigkraut auch nach Abgabe der Arbeit weiterhin beschäftigen wird, um den bisherigen Erkenntnissen neue Ergebnisse hinzufügen zu können. Die Bearbeitung des nie langweilig gewordenen Themas hat mich darüber hinaus darin bestätigt, dass das Fach „Chemie“ für mich auch weiterhin eine wichtige Rolle spielen wird, da sich aus einer einzigen chemischen Fragestellung heraus immer wieder neue Möglichkeiten ergeben, diese (experimentell) zu beantworten.

Mit dem Abschluss der Seminararbeit einher geht final der Wunsch, die Pflanze Stevia rebaudiana aus verschiedenen Blickwinkeln beleuchtet und greifbar gemacht zu haben, sodass auch der Leser der vorangehenden Kapitel die Faszination für die paraguayische Pflanze nachvollziehen hat können.

8 ANHANG

zu 2.2.2.1 Anbau von Stevia rebaudiana

- **erster Anbau**

Der erste Anbau von Stevia rebaudiana erfolgt am 06. Februar 2012 im beginnenden Frühjahr. Es werden fünf Stevia-Samen ausgesät, damit sich auch bei einer niedrigen Keimungsrate zumindest eine Pflanze entwickelt.

Materialien: Anzuchterde, Anzuchttopf, Stevia-Saatgut [Erntefreude Premium, MHD 01/2015], Wassersprühflasche, Holzstäbchen, Frischhaltefolie

Aufbau und Durchführung:

Abb 160 Materialien beim Stevia-Anbau

(1) Der Anzuchttopf (∅ = 5-6 cm) wird mit Anzuchterde gefüllt und die Oberfläche geebnet.

(2) Mit Hilfe der Wassersprühflasche wird die Erde befeuchtet, sodass das Saatgut zur Keimung aufgetragen werden kann.

(3) Nachfolgend werden fünf Saatkörner mit einem Holzstäbchen im Abstand von 1 cm auf die Anzuchterde aufgebracht und leicht angedrückt.

(4) Gegen Verdunstung und für ein warmes, feuchtes Mikroklima soll eine Abdeckung mit Frischhaltefolie sorgen.

Nach dem Anbau wird das Gefäß auf eine sonnige Fensterbank gestellt und die Entwicklung der Stevia rebaudiana beobachtet. Die Keimung sollte bei einer Zimmertemperatur von durchschnittlich 25°C in den folgenden Tagen erfolgen.

Abb 161 Anzuchtgefäß auf Fensterbank

Beobachtungen:

nach drei Tagen

- gelb-hellgrüner Austrieb eines geöffneten Samenkorns
- Quellung von zwei weiteren Samen

nach sieben Tagen

- bestehende Jungpflanze von ca. 0,6 cm Höhe mit erstem rundlichen, unbehaartem Blattpaar
- zweiter hellgrüner Austrieb eines weiteren Saatkorns

nach elf Tagen

- frisches Blattpaar an ca. 0,75 cm hoher Pflanze
- Welken des zweiten Sämlings

nach 29 Tagen

- grüne Pflanze mit vier behaarten, gegenständigen Blattpaaren
- zum Fenster geneigtes Wachstum der Pflanze

Abb 162 Entwicklung angesäter Stevia rebaudiana; von links: Tag 3, Tag 7, Tag 11, Tag 29 nach Anbau

Abb 163 Längenwachstum von Stevia rebaudiana

Nach dreimonatiger Beobachtung wird die Beschreibung der Entwicklung eingestellt, da für den Anbau wichtige Erkenntnisse bezüglich Keimung und Wachstum gesammelt worden konnten. Die durch regelmäßige Messung ermittelten Werte der Wuchshöhe zeugen von einem kontinuierlichen Längenwachstum.

Die zugrunde liegenden Messdaten sind in der Folge tabellarisch aufgeführt.

Tag nach Anbau	Höhe in cm	Tag nach Anbau	Höhe in cm	Tag nach Anbau	Höhe in cm	Tag nach Anbau	Höhe in cm
1	0	26	26	51	96	76	284
2	0	27	29	52	98	77	288
3	1	28	33	53	100	78	298
4	5,5	29	33,5	54	109	79	298
5		30	35,5	55		80	307
6	6,25	31	37	56	119	81	307
7	6,5	32	39,5	57	123	82	
8	6,75	33	39,5	58	123	83	315
9	6,75	34	42,5	59	132	84	320
10	7,25	35	48	60	139	85	323
11	7,5	36	55,25	61	149	86	325
12	7,75	37	63	62	166	87	326
13	8	38		63	177	88	331
14	8,75	39	69	64		89	332
15	9,25	40	71	65	209	90	334
16	11	41	74	66	209	91	334
17	13	42	74	67	216	92	334
18	15	43	74	68	225	93	347
19	17	44	74	69	232	94	349
20	18,5	45	77,5	70	241	95	345
21		46	80,5	71	246		
22	19	47	84,5	72	258		
23	20,5	48	87	73	265		
24	20,5	49	88	74	277		
25	23,5	50	95	75			

Tab 12 Messung des Höhenwachstums

Auswertung:

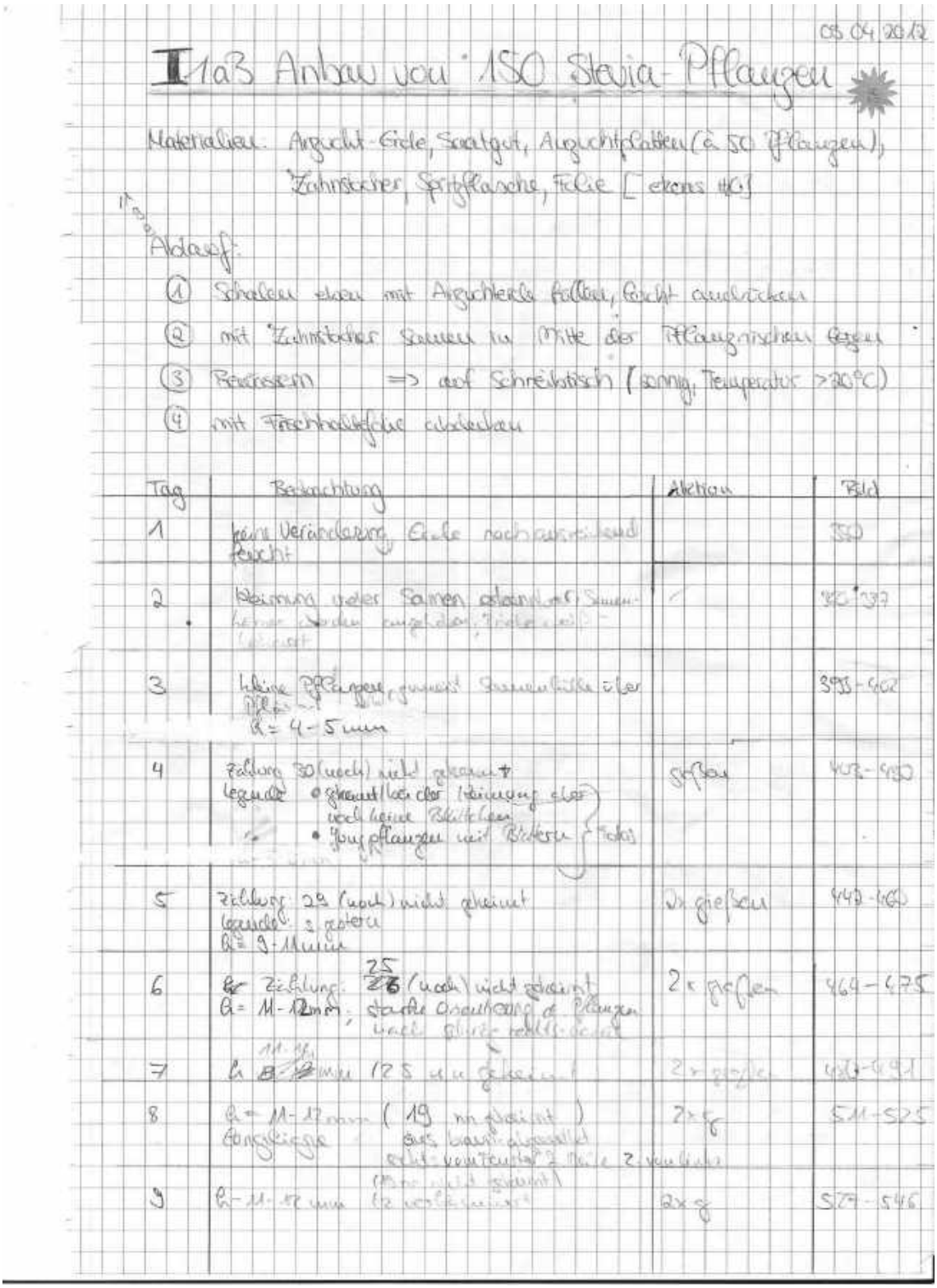
Durch die Bewässerung wird die Zellteilung in den Samen angeregt und Wasser eingelagert (→ Anschwellen). Schon nach wenigen Tagen zeigt sich die überraschende Keimung eines Samenkorns, wobei der hellgrüne Austrieb die Wurzel für die zukünftige Stevia-Pflanze bildet.

Das erste Blattpaar dient zum raschen Wachstum durch Photosynthese. Die Folgeblätter sind zum Schutz vor Schädlingen und zur Verhinderung der Oberflächenverdunstung mit flaumigen „Härchen“ überzogen. Die Form und Ausprägung der Blätter entspricht den erwarteten Angaben des theoretischen Aussehens des Honigblatts.

Durch die Photosynthese gewinnt die Pflanze zügig an Größe. Durch Lichtmangel aufgrund kurzer Taglängen im Frühjahr neigt sich die Jungpflanze gegen das Fenster und „vergeilt“. Zweimaliges Umtopfen in größere Pflanzgefäße hat keinen prägenden Einfluss auf die Entwicklung (Tag 22, Tag 70). Die Verlangsamung des Wachstums

gegen Ende des Beobachtungszeitraums lässt sich mit der besseren Lichtzufuhr gegen Ende des Frühjahrs und Beginn des Sommers begründen. Die Pflanze wächst deshalb in der Folge buschiger.

- **Messdaten aus zweitem Anbau**



03.04.2012

I 1a3 Anbau von 150 Stevia-Pflanzen

Materialien: Anzucht-Erde, Saatgut, Anzuchtplatten (à 50 Pflanzen), Zahnstocher, Spritzflasche, Folie [ekons #6]

Ablauf:

1. Schalen eben mit Anzuchterde füllen, leicht andrücken
2. mit Zahnstocher Samen in Mitte der Pflanznischen legen
3. Bewässern => auf Schreibtisch (sonnig, Temperatur >20°C)
4. mit Frischhaltefolie abdecken

Tag	Beobachtung	Aktion	Bild
1	keine Veränderung, Erde noch ausreichend feucht		350
2	Keimung vieler Samen erkennbar, Samenkörner werden angehoben, [illegible]		380-397
3	kleine Pflanzen, gummiert Samenhülle über Pflanze h = 4-5 mm		393-402
4	Zählung 30 (noch) nicht gekeimt; Legende: • gekeimt/bei der Keimung aber noch keine Blättchen • Jungpflanzen mit Blättern } Fotos	gießen	403-430
5	Zählung: 29 (noch) nicht gekeimt; Legende: s. gestern; h = 9-11 mm	2x gießen	442-460
6	Zählung: 25 (noch) nicht gekeimt; h = 11-12 mm; starke Orientierung d. Pflanzen nach [illegible]	2x gießen	464-475
7	h 11-12 mm (25 nn gekeimt)	2x gießen	480-491
8	h = 11-12 mm (19 nn gekeimt) Langgleiche aus braun-abgestellt [illegible]	2x g	511-525
9	h = 11-12 mm (19 nn nicht gekeimt) [illegible]	2x g	527-546

Abb 164 Messdaten Höhenwachstum Anbau 2.1

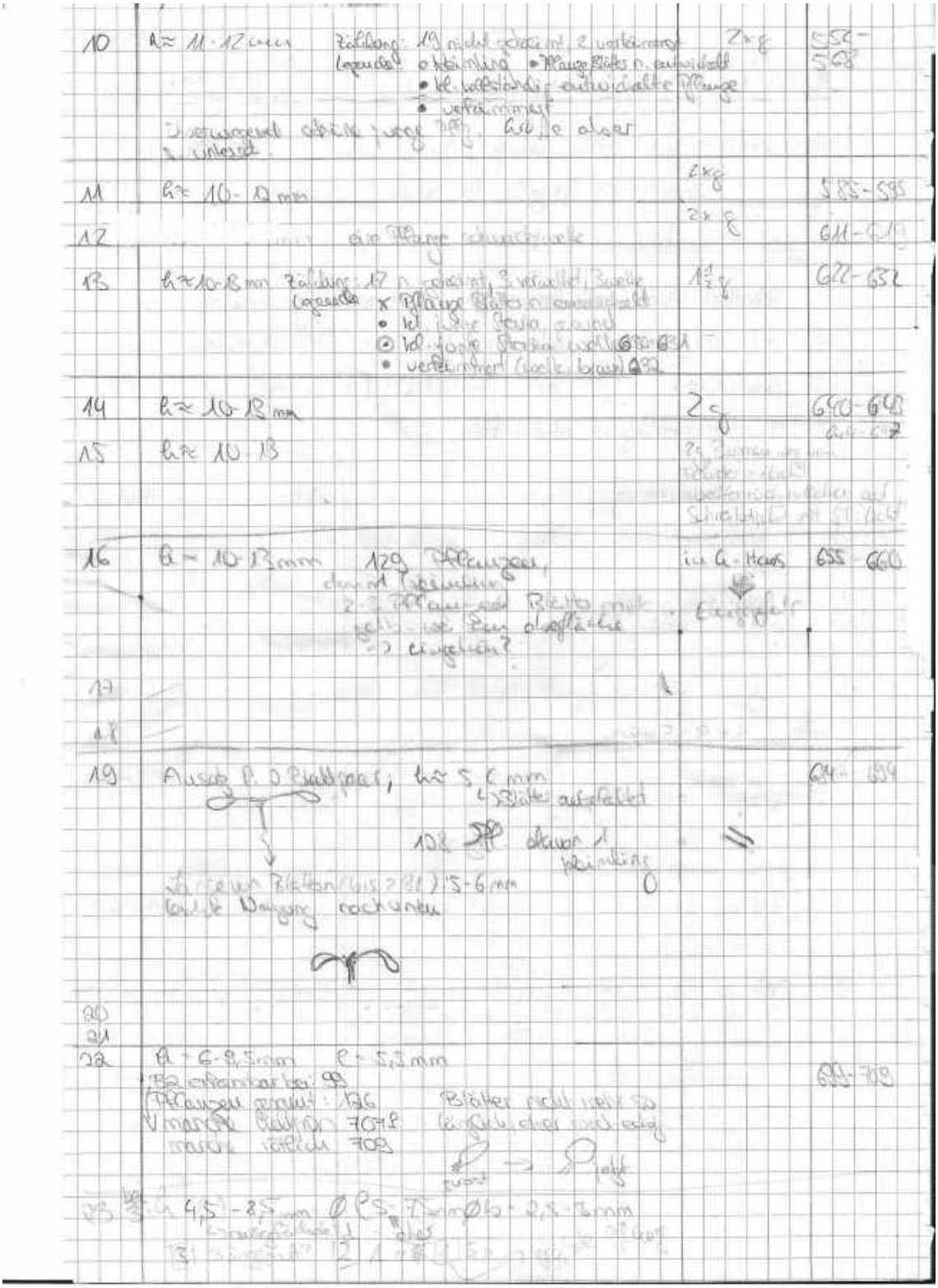


Abb 165 Messdaten Höhenwachstum Anbau 2.2

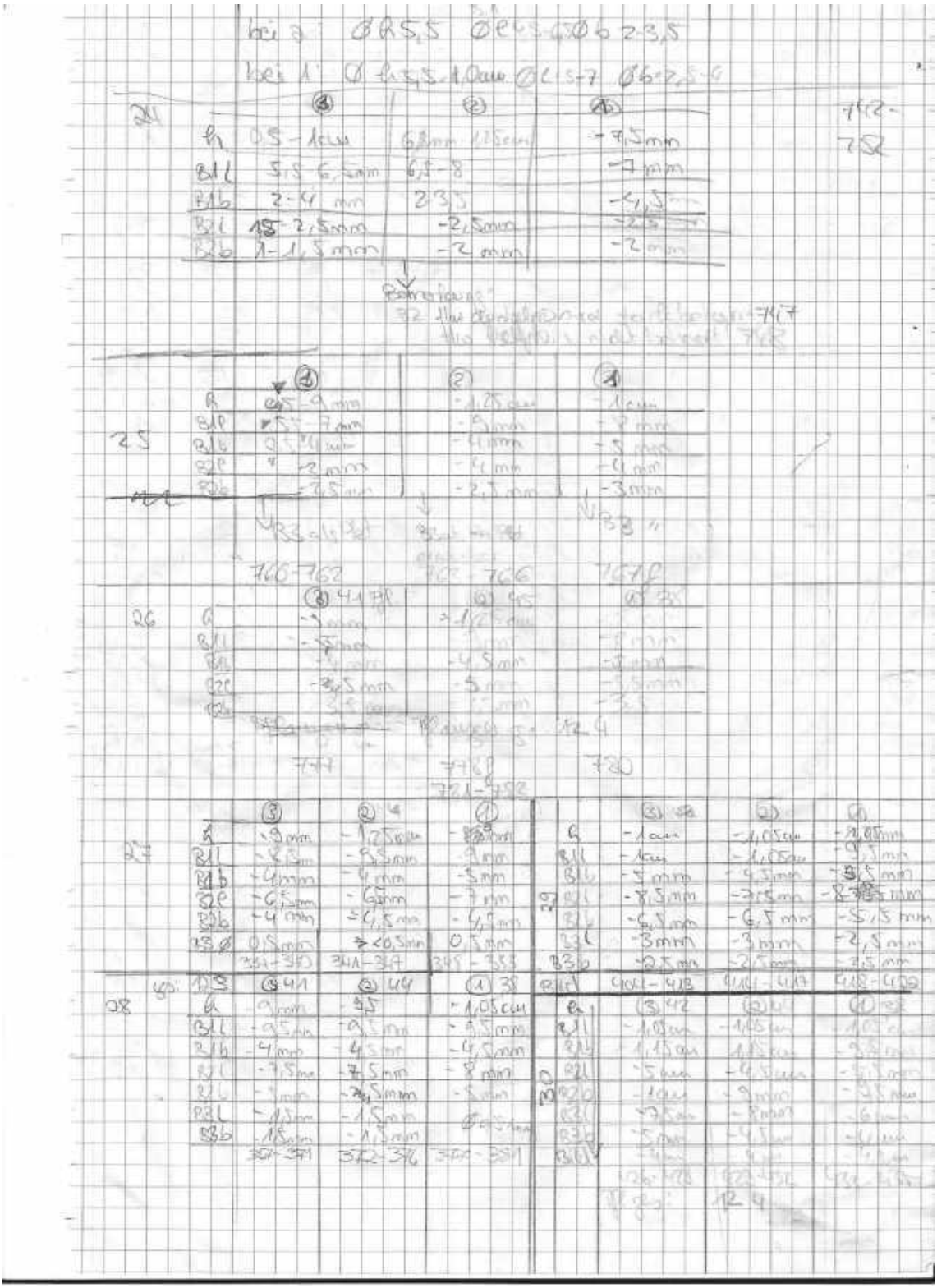


Abb 166 Messdaten Höhenwachstum Anbau 2.3

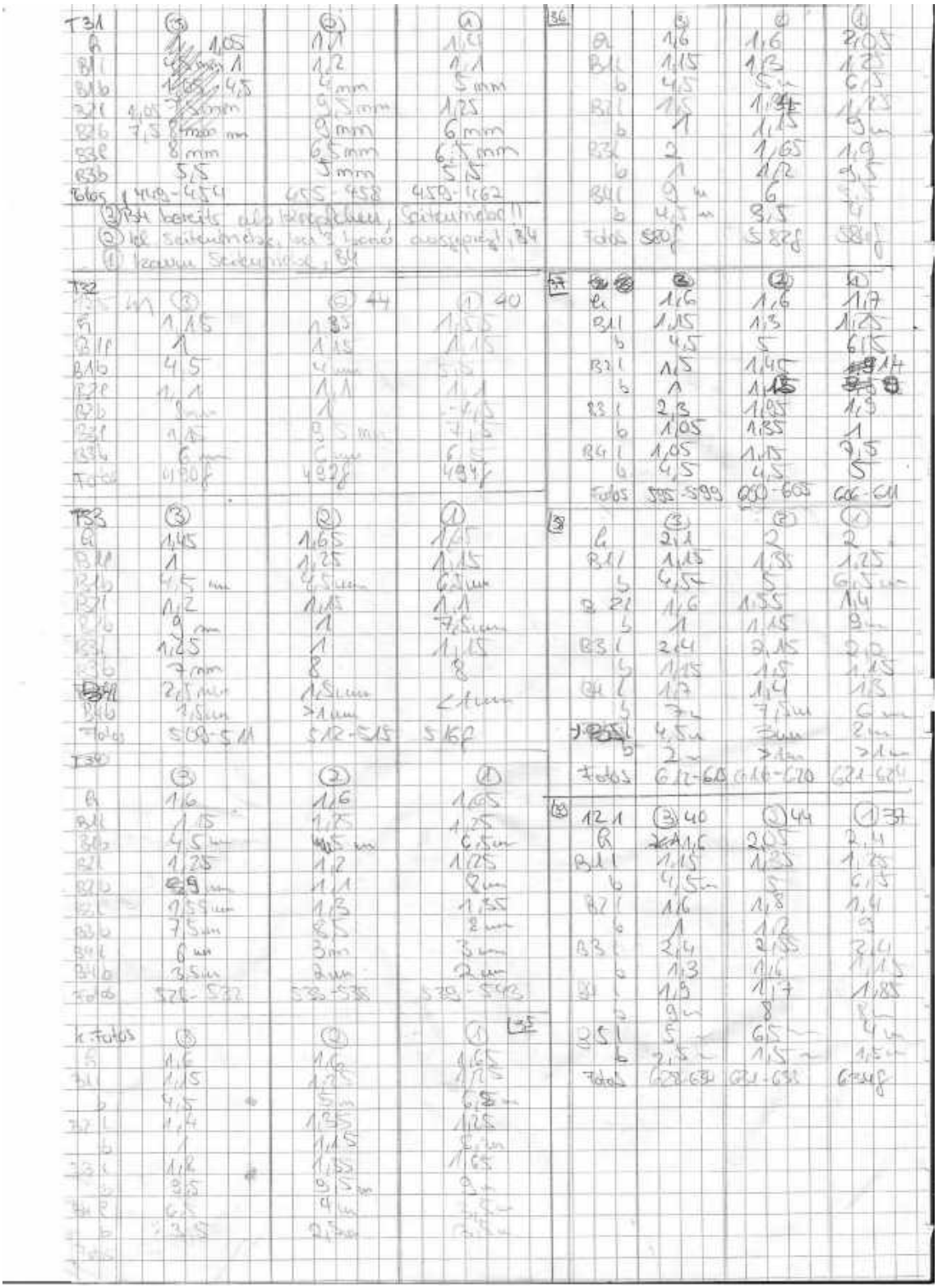


Abb 167 Messdaten Höhenwachstum Anbau 2.4

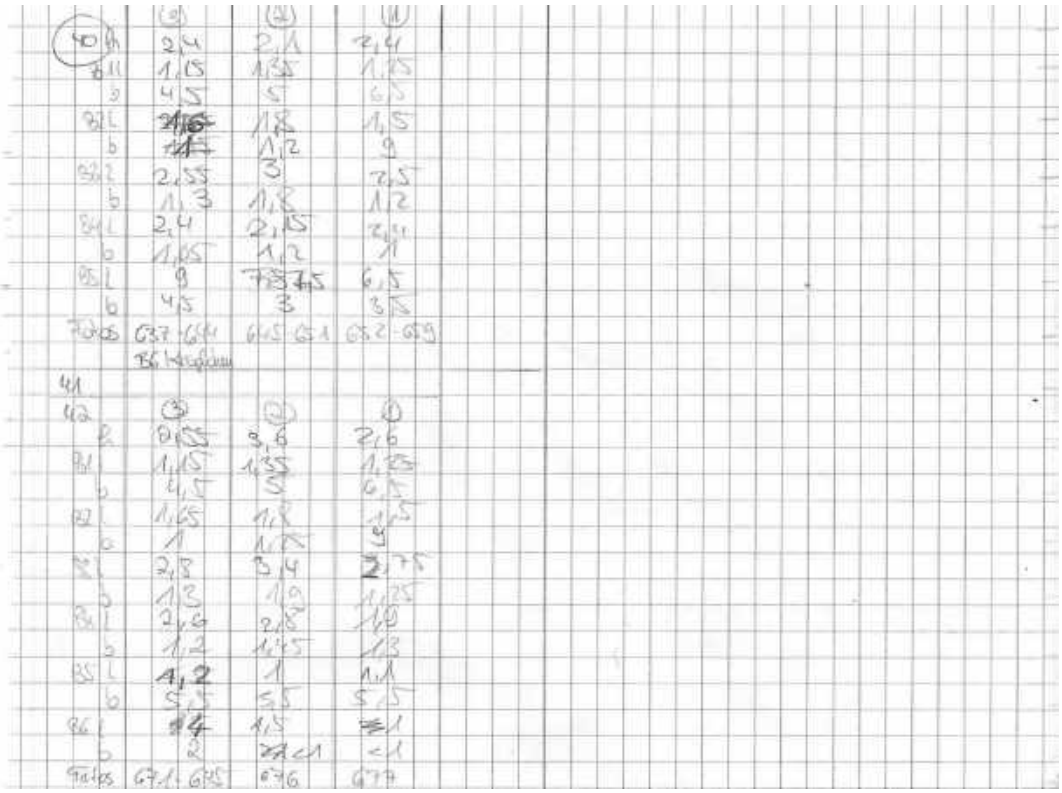


Abb 168 Messdaten Höhenwachstum Anbau 2.5

Abb 169 Messdaten Höhenwachstum Anbau 2.6

zu 2.2.2.3 Kultur im Freien unter verschiedenen Bedingungen

Schaffung der Beete für die Kultur im Freien

In verschiedenen Beeten wird das Wachstum der Stevia rebaudiana mit und ohne Düngung von braunem Humus sowie drei repräsentativ ausgewählten Düngemitteln untersucht. Eine geeignete Beetfläche lässt sich durch die Abgrenzung mit Beton- und Granitsteinen schaffen.

Materialien: Kreuzhacke, Schaufel, Spaten, Gartenrechen, großmaschiges Sieb, Eimer, Schubkarren, 2 Kunststofffolien, Granit- und Betonsteine, Gartenhumus, Pferdemist, Kuhmist, Kompost

Aufbau und Durchführung:

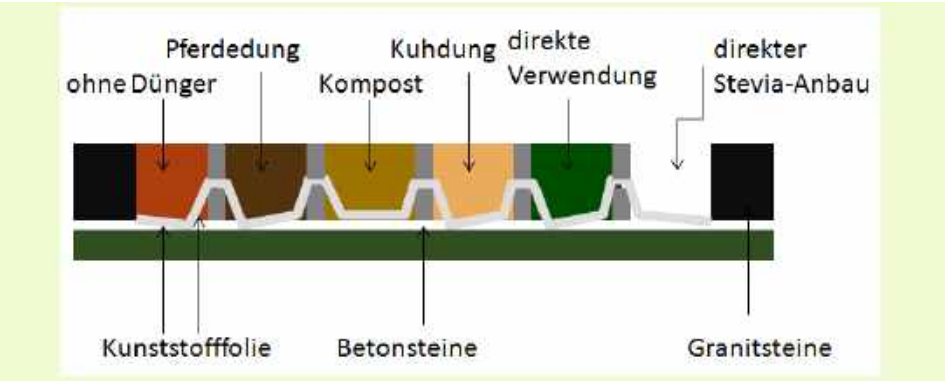


Abb 170 Einteilung und Abtrennung von Einzelbeeten

(1) Auf einer Fläche von 3,30 x 5,60 m^2 wird eine Kunststofffolie auf einer leicht abfallenden Grasfläche ausgebreitet und mit Granitsteinen umgrenzt. Die Trennung der Beete vom Boden sowie die Einrahmung soll ein geschlossenes System bilden und vor Unkrautwachstum schützen.

Mit Betonsteinen werden sechs Beete abgetrennt und mit einer zweiten Schicht Folie überzogen, sodass Regen- und Gießwasser nicht von einem Beet zum anderen überfließen können. Weitere Reihen Betonsteine auf die ersten Abgrenzungen sorgen für die Trennung des Erdreichs der einzelnen Beete und gewährleisten eine unabhängige Dokumentation des von den Düngemitteln beeinflussten Stevia-Wachstums.

Abb 171 abgetrennte Beete

(2) Die abgegrenzten Beete werden mit Humus, welcher durch ein grobmaschiges Sieb von harten Erdklumpen getrennt worden ist, gefüllt. Die Oberfläche der Erde wird mit einem Rechen geebnet.

(3) In drei der sechs Beete werden die ausgewählten, biologischen Düngemittel Pferdemist, Kuhmist und handelsüblicher Kompost eingearbeitet. Die Menge der einzelnen Dünger entspricht dem Volumen von zwei nicht vollständig gefüllten Wassereimern (10 L). Durch mehrmaliges Umkehren der Erde können die nährstofflieferndenden Stoffe gleichmäßig im Beet verteilt werden. Die Ebnung der Humusoberfläche schließt die Gestaltung der Beete ab.

Abb 172 Ausbringung von Dünger in die Beete

Durch die so vorbereiteten Anpflanzungsflächen dürfte für die Stevia-Jungpflanzen ein ausreichender Nährboden für ein gesundes Wachstum geschaffen worden sein. Ein sechstes, angefügtes Beet könnte weiterhin zur direkten Aussaat des Honigkrauts im Freien verwendet werden, bleibt jedoch in der Folge brach liegen.

Messdaten:

Messung	ohne Dünger [cm]	Pferdedung [cm]	Kompost [cm]	Kuhdung [cm]
1	4	4,5	4,5	5
	4	4	4	4,5
	2,5	3	2,5	3
2	4,5	4,5	5	5
	4	4,5	4	4,5
	3	3,5	3	4,5
3	8	7,5	7	8,5
	6,5	8	6	7,5
	5	5	5	7
4	13,5	12	12	15
	11	13	11	12
	12	11,5	10,5	10,5
5	21	15	15	21
	15	18	17	20
	17	15	15	14
6	23,5	18	17,5	24
	18	23,5	20	23,5
	20	17,5	19	15
7	34	33	27	31
	32	31	30	38
	35	31	34	27
8	40	40	32	33
	37	36	38	45
	40	37	39	29
9	55	55	43	36,5
	48	49	51	61
	55	50	52	37

Tab 13 Messdaten Höhenwachstum im Beet aus Anbau 2

Messung	ohne Dünger [cm]	Pferdedung [cm]	Kompost [cm]	Kuhdung [cm]
1	3,5	4,5	3,5	3,5
2	4,5	4,5	4,5	4
3	9	6	6	7,5
4	15	9	9	11
5	16	9	10	11
6	19	10,5	10	11,5
7	28	17	17	17
8	30	20	21	20
9	47	28	34	28

Tab 14 Messdaten Höhenwachstum im Topf aus Anbau 2

ohne Dünger [cm]	Pferdedung [cm]	Kompost [cm]	Kuhdung [cm]
71	66	58	71
35	72	61	52
40	60	77	64

Tab 15 Messdaten Umfang der Pflanzen im Beet aus Anbau 2

zu 3.1.2.2.1 Vorversuch zur vergleichenden Dünnschichtchromatographie

Vanillin-Lsg: 0,5g Vanillin, 50mL Ethanol, 1mL Schwefelsäure

Thymol-Lsg: 0,25g Thymol, 2,5mL Schwefelsäure (96%), 47,5mL Ethanol (96%)

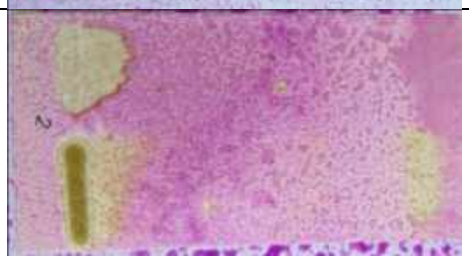
zu 3.1.2.2.2 Erste vergleichenden Dünnschichtchromatographie

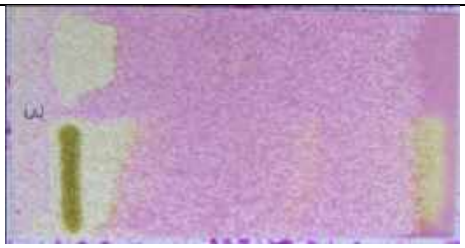
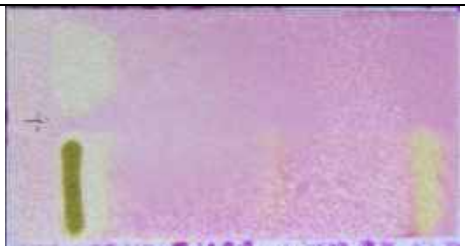
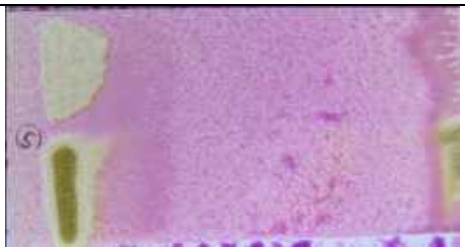
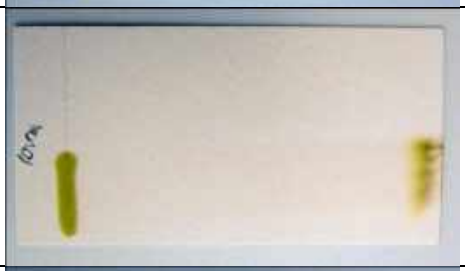
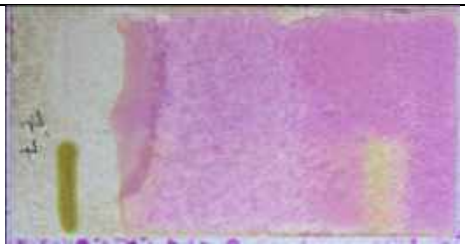
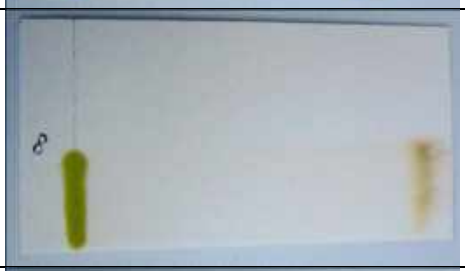
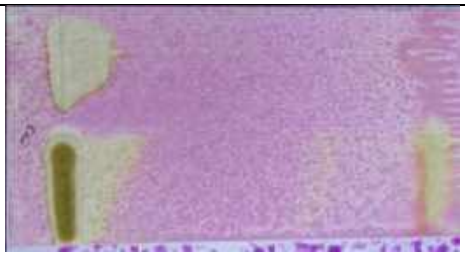
Abb 175 DC-Platte Laufmittel Gemisch 3:1:1

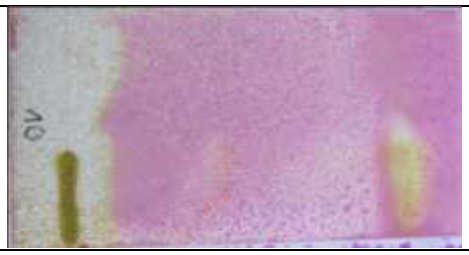
Abb 174 DC-Platte Laufmittel Ethanol

Abb 173 DC-Platte Laufmittel Propan-2-ol

zu 3.1.2.2.3 Verbesserte vergleichende Dünnschichtchromatographie

Laufmittel-nummer	ohne Anfärben	mit $KMnO_{4\,(aq)}$ angefärbt
1		
2		

3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		

10		

Tab 16 DC-Platten der zweiten vergleichenden DC

zu 3.3.2.2 Stabilität in Abhängigkeit vom pH-Wert

pH-Wert	nach 1 h		nach 2 Tagen		nach 2 Wochen		nach 9 Wochen	
0	()		()		()		()	
1	-		-		-		+	
2	-		-		-		-	
3	-		-		-		-	
4	-		-		-		-	
5	-		-		-		-	
6	-		-		-		-	
7	-		-		-		-	
8	-		-		-		-	
9	-		-		-		-	
10	-		-		-		-	
11	-		-		-		-	
12	-		-		-		-	
13	-		-		-		-	
14	-		-		-		-	

Tab 17 Beobachtungsbilder des Stabilitätstests: pH-Wert

zu 4.1.2.1 Geschmackstest mit Vanille-Pudding

- Bewertungsbogen

W-Seminar-Chemie Geschmackstest Vanille-Pudding, 28.03.2012 Marion Vogl

Vanille-Pudding mit *Saccharose* und *Stevia rebaudiana* (Geschmackstest)

Pudding1:

- **vor dem Essen:** Aussehen/Eindruck: ☐ appetitlich ☐ neutral ☐ blass ☐ abstoßend
  Geruch: ☐ angenehm/lecker ☐ unangenehm/abstoßend **Art des Geruchs:**_____
- **beim Essen:** erster Eindruck: ☐ süß ☐ Vanille ☐ bitter ☐ sonstiges:_____
  Konsistenz: ☐ zu flüssig ☐ flüssig ☐ normal/passend ☐ fest ☐ zu fest
  Geschmack vorwiegend: ☐ süß ☐ Vanille ☐ bitter ☐ sonstiges:_____
  Süße: ☐ viel zu süß ☐ zu süß ☐ angenehm süß ☐ zu wenig süß ☐ kaum/nicht süß
  Nachgeschmack vorwiegend: ☐ süß-klebrig ☐ angenehm süß ☐ Vanille ☐ bitter
  ☐ keiner ☐ sonstiges: _____
- **nach dem Essen:**
  Gesamteindruck – Note (von 1-6): _____
  vermutetes Süßungsmittel: ☐ Saccharose ☐ Stevia rebaudiana

Pudding2:

- **vor dem Essen:** Aussehen/Eindruck: ☐ appetitlich ☐ neutral ☐ blass ☐ abstoßend
  Geruch: ☐ angenehm/lecker ☐ unangenehm/abstoßend **Art des Geruchs:**_____
- **beim Essen:** erster Eindruck: ☐ süß ☐ Vanille ☐ bitter ☐ sonstiges:_____
  Konsistenz: ☐ zu flüssig ☐ flüssig ☐ normal/passend ☐ fest ☐ zu fest
  Geschmack vorwiegend: ☐ süß ☐ Vanille ☐ bitter ☐ sonstiges:_____
  Süße: ☐ viel zu süß ☐ zu süß ☐ angenehm süß ☐ zu wenig süß ☐ kaum/nicht süß
  Nachgeschmack vorwiegend: ☐ süß-klebrig ☐ angenehm süß ☐ Vanille ☐ bitter
  ☐ keiner ☐ sonstiges:_____
- **nach dem Essen:**
  Gesamteindruck – Note (von 1-6): _____
  vermutetes Süßungsmittel: ☐ Saccharose ☐ Stevia rebaudiana

Fazit:

geschmacklicher Unterschied: ☐ ja ☐ nein

insgesamt besserer Pudding: Nr._____

Abb 176 Bewertungsbogen zum Geschmackstest mit Vanille-Pudding

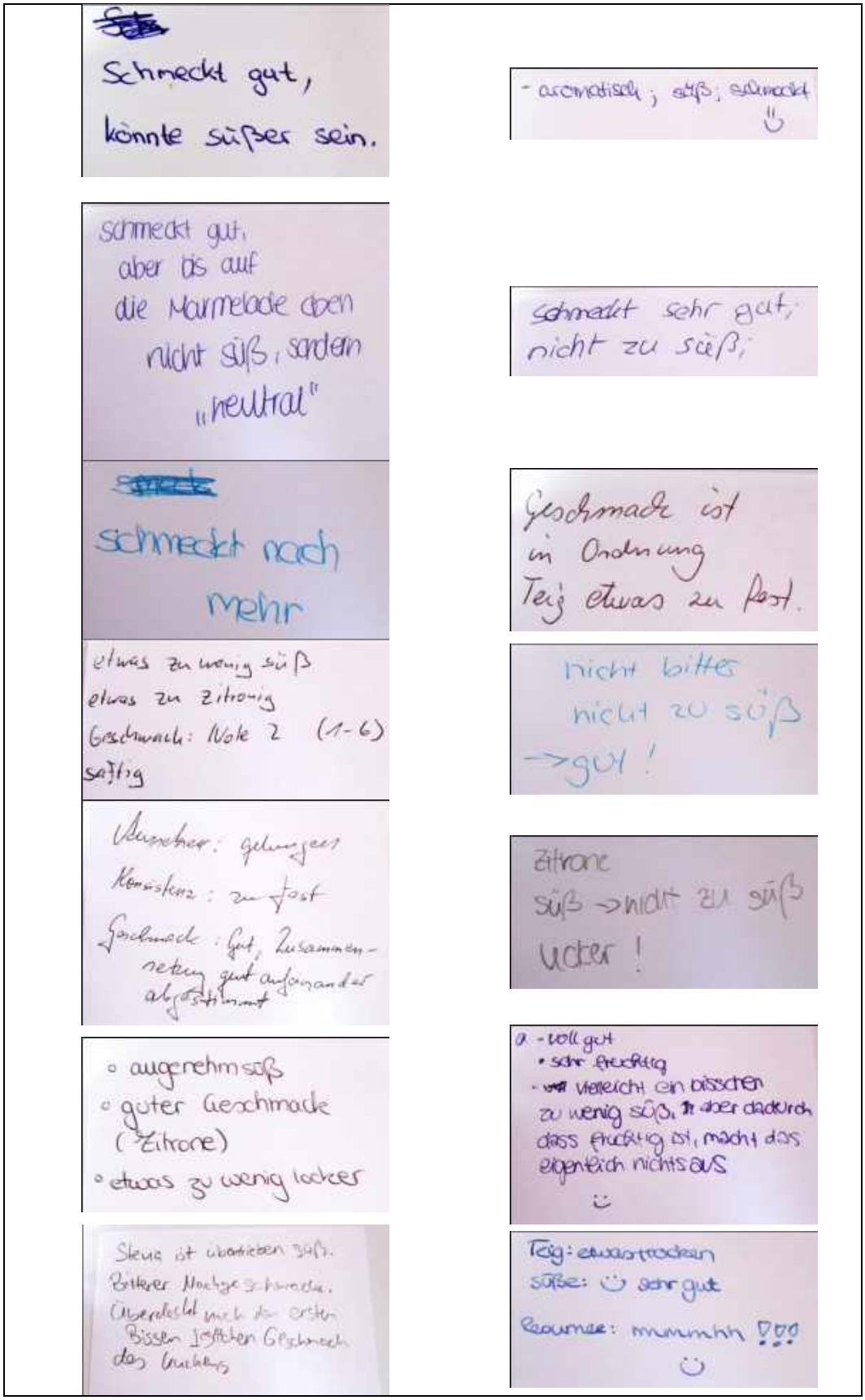
- Sammlung der Daten der einzelnen Bewertungsbögen

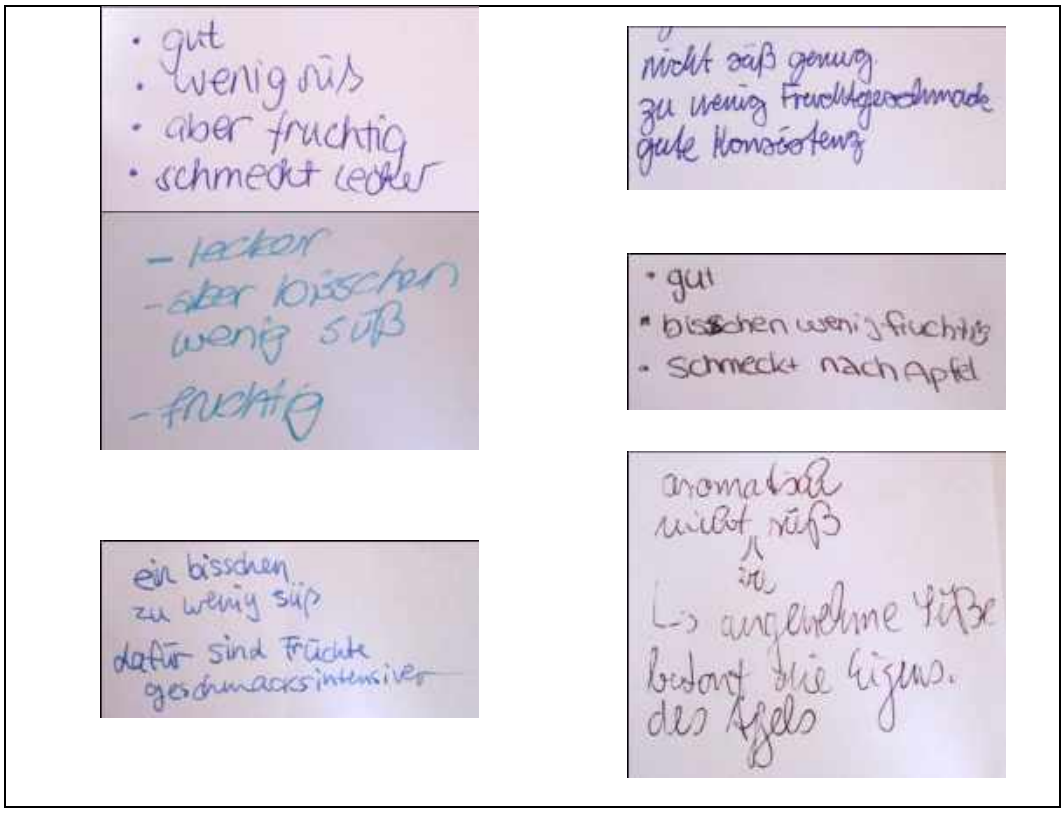
	Pudding1 **Stevia**			**Pudding2** **Zucker**		
		Anzahl | prozentual			Anzahl | prozentual	
vor dem Essen	Aussehen/Eindruck					
	appetitlich	21	58,33%	appetitlich	29	80,56%
	neutral	15	41,67%	neutral	7	19,44%
	blass	0	0,00%	blass	0	0,00%
	abstoßend	0	0,00%	abstoßend	0	0,00%
	Geruch					
	angenehm/lecker	35	97,22%	angenehm/lecker	30	83,33%
	unangenehm/abstoßend	0	0,00%	unangenehm/abstoßend	1	2,78%
	Vanille/vanilleartig	25	69,44%	Vanille/vanilleartig	17	47,22%
	neutral/mild	6	16,67%	neutral/mild	9	25,00%
	süß	8	22,22%	süß	7	19,44%
	milchig/sahnig	3	8,33%	milchig/sahnig	3	8,33%
beim Essen	erster Eindruck					
	süß	6	16,67%	süß	33	91,67%
	Vanille	18	50,00%	Vanille	17	47,22%
	bitter	8	22,22%	bitter	0	0,00%
	wenig gehaltvoll/mild/neutral	9	25,00%	wenig gehaltvoll/mild/neutral	1	2,78%
	wenig süß	4	11,11%	wenig süß	3	8,33%
	synthetisch	1	2,78%	synthetisch	0	0,00%
	sahnig/milchig	4	11,11%	sahnig/milchig	2	5,56%
	nach Stärke	1	2,78%	nach Stärke	0	0,00%
	etwas bitterer	2	5,56%	etwas bitterer	0	0,00%
	Konsistenz					
	zu flüssig	0	0,00%	zu flüssig	0	0,00%
	flüssig	3	8,33%	flüssig	3	8,33%
	normal/passend	23	63,89%	normal/passend	30	83,33%
	fest	9	25,00%	fest	3	8,33%
	zu fest	0	0,00%	zu fest	0	0,00%
	Geschmack vorwiegend					
	süß	5	13,89%	süß	35	97,22%
	Vanille	14	38,89%	Vanille	16	44,44%
	bitter	13	36,11%	bitter	0	0,00%
	schwach/neutral	7	19,44%	schwach	0	0,00%

	milchig/sahnig	6	16,67%	milchig/sahnig	1	2,78%
	nach Stärke	1	2,78%	nach Stärke	0	0,00%
	Süße					
	viel zu süß	0	0,00%	viel zu süß	1	2,78%
	zu süß	0	0,00%	zu süß	14	38,89%
	angenehm süß	4	11,11%	angenehm süß	24	66,67%
	zu wenig süß	20	55,56%	zu wenig süß	1	2,78%
	kaum/nicht süß	12	33,33%	kaum/nicht süß	0	0,00%
	Nachgeschmack vorwiegend					
	süß-klebrig	2	5,56%	süß-klebrig	9	25,00%
	angenehm süß	3	8,33%	angenehm süß	22	61,11%
	Vanille	7	19,44%	Vanille	13	36,11%
	bitter	16	44,44%	bitter	2	5,56%
	keiner	9	25,00%	keiner	1	2,78%
	zu mild	4	11,11%	zu mild	2	5,56%
	käsig	1	2,78%	käsig		0,00%
	unangenehm	2	5,56%	unangenehm		0,00%
nach dem Essen	Gesamteindruck-Note		3,3333	Gesamteindruck-Note		1,7778
	Note 1	2	5,56%	1	15	41,67%
	Note 2	4	11,11%	2	17	47,22%
	Note 3	16	44,44%	3	2	5,56%
	4	8	22,22%	4	1	2,78%
	5	6	16,67%	5	1	2,78%
	6	0	0,00%	6	0	0,00%
	vermutetes Süßungsmittel					
	Saccharose	13	36,11%	Saccharose	23	63,89%
	Stevia rebaudiana	23	63,89%	Stevia rebaudiana	13	36,11%
	Fazit					
	Geschmacksunterschied					
	ja	36	100,00%			
	nein	0	0,00%			
	besserer Pudding					
	Nr.1	4	11,11%			
	Nr.2	31	86,11%			

Tab 18 Datenerhebung beim Geschmackstest mit Vanillepudding

zu 4.1.2.2 Rezept Apfel-Birnen-Kuchen





Tab 19 Bewertungen des Apfel-Birnen-Kuchens

zu 4.1.2.3 Rezept Mandel-Sandkuchen

Kuchen; Konsistenz und Geruch gut.
Geschmack:
zuerst fad, dann übertrieben süß und dann bitter.
Fazit: Bäh :(

⊖ recht komisch
wirkt sehr fest, nicht so fluffig
mehlig, kein Geschmack
⊕ Aussehen wie Kuchen

nicht locker
etwas pampig
schwer zu schneiden
ausgewogene Süße
gutes Geschmack (Mandel kommt ~~zu~~ gerade richtig zur Geltung)

negativ ⊖
wenig süß

positiv ⊕
nicht pappig
nicht zu süß

Mecht extrem dann
schmeckt ok
aber so trocken

eigentlich super, nur etwas trocken und etwas wenig Ge[redacted]-schmack ansonsten echt gut ♡

⊕ Konsistenz, Aussehen, Nachgeschmack
⊖ fast kein Geschmack

Konsistenz sehr gut
ansehnlich
angenehmer Nachgeschmack, der lange anhält

Etwas trocken
wenig süß
feste Konsistenz
Aromen gut!

etwas trocken,
leicht bitter,
iwie etwas „leer"; mit „richtigem" Zucker schmeckt der Kuchen „voller" vollmundig

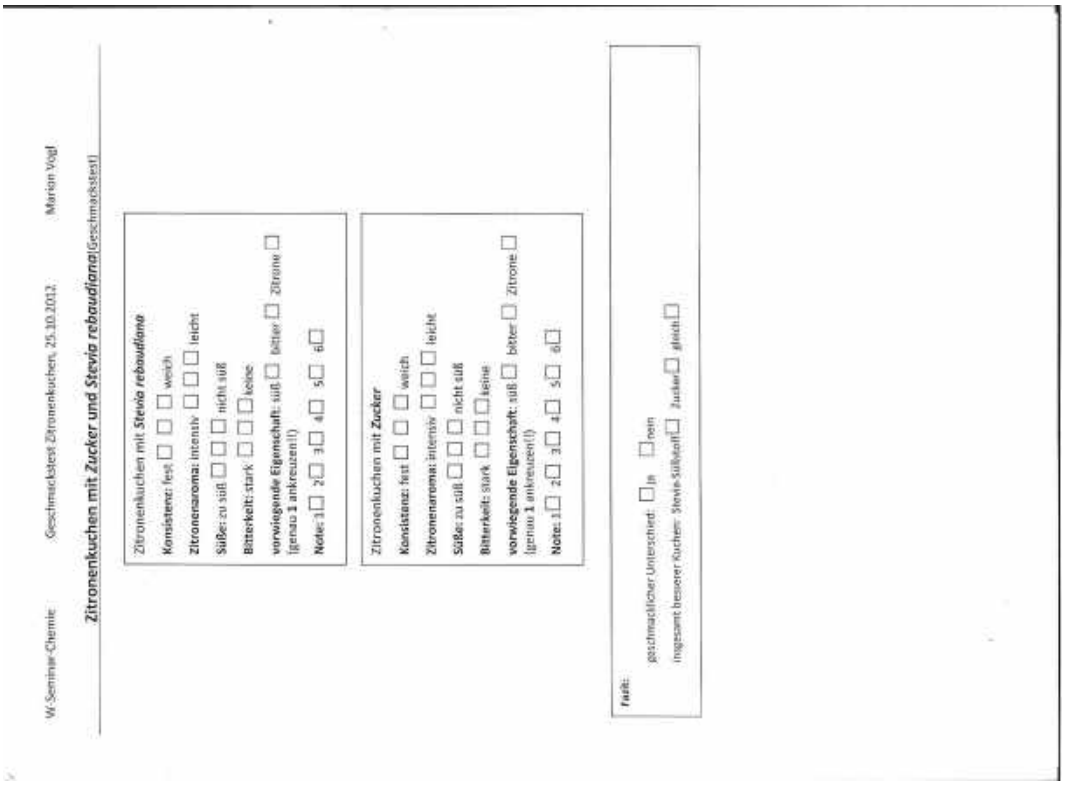
trocken, aber noch in Ordnung
evtl. anderer Aromastoff als Bittermandel

Bewertung: Mit mehr Geschmack wärs perfekt,)

Tab 20 Bewertungen Mandel-Sandkuchen

zu 4.1.2.6 Placebo-Geschmackstest mit Zitronenkuchen

- Bewertungsbogen



W-Seminar-Chemie Geschmackstest Zitronenkuchen, 25.10.2012 Marion Vogl

Zitronenkuchen mit *Zucker* und *Stevia rebaudiana* (Geschmackstest)

Zitronenkuchen mit ***Stevia rebaudiana***

Konsistenz: fest ☐ ☐ ☐ weich

Zitronenaroma: intensiv ☐ ☐ ☐ leicht

Süße: zu süß ☐ ☐ ☐ nicht süß

Bitterkeit: stark ☐ ☐ ☐ keine

vorwiegende Eigenschaft: süß ☐ bitter ☐ Zitrone ☐

(genau 1 ankreuzen!!)

Note: 1☐ 2☐ 3☐ 4☐ 5☐ 6☐

Zitronenkuchen mit ***Zucker***

Konsistenz: fest ☐ ☐ ☐ weich

Zitronenaroma: intensiv ☐ ☐ ☐ leicht

Süße: zu süß ☐ ☐ ☐ nicht süß

Bitterkeit: stark ☐ ☐ ☐ keine

vorwiegende Eigenschaft: süß ☐ bitter ☐ Zitrone ☐

(genau 1 ankreuzen!!)

Note: 1☐ 2☐ 3☐ 4☐ 5☐ 6☐

Tasti:

geschmacklicher Unterschied: ☐ ja ☐ nein

insgesamt besserer Kuchen: Stevia-Süßstoff ☐ Zucker ☐ gleich ☐

Abb 177 Bewertungsbogen Geschmackstest Placebo-Zitronenkuchen

Konsistenz	fest	mittel	weich
Stevia	0	9	12
Zucker	0	12	9
Süße	zu süß	mittel	nicht süß
Stevia	0	19	2
Zucker	4	13	4
Eigenschaft	süß	bitter	Zitrone
Stevia	9	1	11
Zucker	14	0	6
Zitronenaroma	intensiv	mittel	leicht
Stevia	3	13	5
Zucker	2	6	13
Bitterkeit	stark	mittel	keine
Stevia	0	4	17
Zucker	0	1	20

Note	1	2	3	4	5	6	∅
Stevia	13	6	0	1	0	0	1,45
Zucker	6	9	6	0	0	0	2

	Fazit		besserer Kuchen		Anteil
Unterschied			Stevia	13	0,61904762
ja	14		Zucker	3	0,14285714
nein	7		gleich	5	0,23809524

Tab 21 Datenerhebung beim Geschmackstest mit Placebo-Zitronenkuchen

9 QUELLENVERZEICHNIS

9.1 Literaturverzeichnis

Lit1 Klock, Peter u.a.: Stevia – gesunde Süße selbst gemacht. Anzucht-Wirkung-Rezepte. München. 2012

Lit2 Vollhardt, K. Peter C./ Schore, Neil E.: Organische Chemie. Weinheim. 1995[2]

Lit3 Christen, Hans Rudolf/ Vögtle, Fritz: Organische Chemie Band II. Von den Grundlagen zur Forschung. Frankfurt a.M. 1990

Lit4 Falbe, Prof. Dr. Jürgen/ Regitz, Prof. Dr. Manfred: Römpp Chemie Lexikon PI-S Band 5. Stuttgart-New York. 1992[9]

Lit5 Hefner, Isabell u.a.: Galvani Chemie 11. München, 2009

Lit6 o. Autor: Desserts. Italienische Küche. Hamburg, 1989

Lit7 Stuber, Hedwig Maria: Ich helf dir kochen. München, 1974[23]

Lit8 Bogdan, Isabel (Übersetzung aus dem Englischen): Backen. Beste Rezepte. Bath, 2003

9.2 Internetverzeichnis

Int1 http://www.freestevia.de/what/what.html [22.09.12]

Int2 http://www.eustas.org/ger/botanic ger.htm [22.09.12]

Int3 http://www.whoindia.org/LinkFiles/Food_Safety_Stevia.pdf [26.01.12]

Int4 http://www.journal-culinaire.de/ausgaben/jc05_kienle.pdf [22.09.12]

Int5 http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/10287/1/IJNPR%201%283%29%20267-286.pdf [26.01.12]

Int6 http://www.eustas.org/ger safety.htm [22.09.12]

Int7 https://stevia.uni-hohenheim.de/ [22.09.12]

Int8 http://www.idosi.org/gjbb/gjbb5(1)10/11.pdf [26.01.12]

Int9 http://www.stevia-paraguay.de/stevia_geschichte.php [03.10.12]

Int10 http://gourmet-frommer-stevia.com/unsere-anbaugebiete/ [03.10.12]

Int11 http://www.brasilien.de/land/florafauna/pflanzen/stevia.asp [03.10.12]

Int12 http://www.steviakaufen.com/infothek/stevia-herstellung-verarbeitung [03.10.12]

Int13 ftp://111.68.111.206/E%20BOOKS%20IN%20ICCBS/PLANT/Medicinal%20and%20Aromatic%20Plants-Industrial%20Profiles/Stevia-%20The%20genus%20Stevia/TF1321ch4.pdf [26.01.12]

Int14 http://www.freestevia.de/crop/crop.html [22.09.12]

Int15 http://www.freestevia.de/products/products.html [22.09.12]

Int16 http://daten.didaktikchemie.uni-bayreuth.de/umat/terpene/terpene.htm#Biosynthese [29.09.12]

Int17 http://de.wikipedia.org/wiki/Coenzym_A#Acetyl-CoA [29.09.12]

Int18 http://www.chemie.uni-erlangen.de/vostrowsky/natstoff/05Terpene.pdf [29.09.12]

Int19 http://webdoc.sub.gwdg.de/ebook/w/2002/pub/bio/00H010/t2.pdf [29.09.12]

Int20 http://www.chemie.de/lexikon/Glycosyltransferase.html [07.10.12]

Int21 http://de.wikipedia.org/wiki/Steviosid [07.10.12]

Int22 http://www.medizinfo.de/pressemitteilungen/20.07.2012/Moderne%20Ern%26auml%3Bhrung%20heute.pdf [07.10.12]

Int23 http://bio.kuleuven.be/biofys/ESC/German/ESC.htm [22.09.12]

Int24 http://www.bfr.bund.de/cm/343/suesse_blaetter_von_stevia_rebaudiana.pdf [11.10.12]

Int25 http://www.internetchemie.info/chemiewiki/index.php?title=Kaurane [10.09.12]

Int26 http://www.scbt.com/datasheet-237131-trans--farnesene.html [12.10.12]

Int27 http://n.ethz.ch/student/mograf/Sem.%205&6/Pharmazeutische%20Bio/I/Kapitel%204-4_TT.pdf [12.10.12]

Int28 http://www.wissenschaft-online.de/sixcms/media.php/370/Leseprobe.529299.pdf [12.10.12]

Int29 http://www.mri.bund.de/fileadmin/Institute/PBE/Sekundaere_Pflanzenstoffe/Flavonoide.pdf [13.10.12]
Int30 http://www.seilnacht.com/Chemie/ch_citro.htm [13.10.12]
Int31 http://www.chemie.de/lexikon/Apfels%C3%A4ure.html [13.10.12]
Int32 http://de.wikipedia.org/wiki/Nanofiltration [19.10.12]
Int33 http://de.wikipedia.org/wiki/Ultrafiltration [19.10.12]
Int34 http://www.mothes-hdt.de/index.php?id=18&L=0 [19.10.12]
Int35 http://www.chemvironcarbon.com/de/aktivkohle/wasistaktivkohle [20.10.12]
Int36 http://www.chemvironcarbon.com/de/aktivkohle/wasistaktivkohle [20.10.12]
Int37 https://stevia.uni-hohenheim.de/87887 [22.09.12]
Int38 http://www.lebensmittelklarheit.de/cps/rde/xchg/lebensmittelklarheit/hs.xsl/3699.htm [22.09.12]
Int39 http://www.eustas.org/ger/sweetener ger.htm [22.09.12]
Int40 http://www.geburtstagsspiel.ws/html/geschenke_geburtstag.html [07.09.12]
Int41 http://www.seilnacht.com/Chemie/ch_nahco.htm [26.10.12]
Int42 http://www.bayernwald.de/userfiles/Stevia%20rebaudiana.pdf [27.10.12]
Int43 http://www.globalsteviainstitute.com/en/Default/ResourceLibrary/Articles/MetabolismoftheZeroCalorieSweetenerStevia.aspx [27.10.12]
Int44 http://www.cspinet.org/new/pdf/stevia-report_final-8-14-08.pdf. 27.10.12
Int45 http://de.wikipedia.org/wiki/Glucurons%C3%A4ure [27.10.12]
Int46 http://www.steviainfo.com/research_articles/Koyama%20et%20al%20(2003).pdf [27.10.12]
Int47 http://de.wikipedia.org/wiki/Enterohepatischer_Kreislauf [27.10.12]
Int48 http://dgk.de/meldungen/efsa-gutachten-ebnet-weg-fuer-eu-zulassung-von-stevia.html [27.10.12]
Int49 http://www.freestevia.de/health/health.html [22.09.12]
Int50 http://www.uni-tuebingen.de/uni/com/html/diversity_terpene.pdf [30.10.12]
Int51 http://www.dife.de/de/index.php?request=/de/service/suche.php [30.10.12]

10 ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS

10.1 Abbildungsverzeichnis

Abb 1 Heimat der Stevia rebaudiana (selbst erstellt) 8
nach:
http://www.single-temp.de/fileadmin/base/gfx/karte_suedamerika.gif [03.10.12]

Abb 2 Anbaugebiete der Stevia rebaudiana (selbst erstellt) 10
nach:
http://www.autoglasklar.de/weltkarten/weltkarte_vorlage.gif [03.10.12]
Michael, Thomas u.a.: Diercke Weltatlas. Braunschweig. 2010, S.256f.

Abb 3 Stevia-Pflanze (selbst erstellt) 11

Abb 4 Stevia-Blüten und Samen 12
links: selbst erstellt
mittig: http://www.stevialaden.de/images/user/17830/produkte/1_611_med.jpg [04.10.12]

Abb 5 Samen des Löwenzahns 12
http://www.pflanzenfreunde.com/heilpflanzen-bilder/loewenzahnsamen.jpg [04.10.12]

Abb 6 Stevia im Gewächshaus 13
http://www.steviaguide.at/media/265365/stevia_folientunnel.jpg [04.10.12]

Abb 7 Stevia im Beet 14
http://u.jimdo.com/www52/o/s948cf2ee746e349b/img/i9d7a02d3f35ed8b6/1338885947/std/image.jpg [04.10.12]

Abb 8 Stevia rebaudiana aus erstem Anbau (selbst erstellt) 15

Abb 9 Materialien beim zweiten Stevia-Anbau (selbst erstellt) 16

Abb 10 Anzuchtplatten nach der Aussaat (selbst erstellt) 16

Abb 11 Wachstum und Entwicklung der Stevia rebaudiana (selbst erstellt) 17

Abb 12 Längenwachstum der Stevien (selbst erstellt) 18

Abb 13 Aufteilung der Jungpflanze auf verschiedene Kulturbedingungen (selbst erstellt) 18

Abb 14 Stevia aus Gewächshaus-Kultur (selbst erstellt) 19

Abb 15 Verteilung der Stevia-Pflanzen auf fünf Beete und 20 Töpfe (selbst erstellt) ... 20

Abb 16 Stevia im Beet (selbst erstellt) 21

Abb 17 Wachstum bei verschiedenen Düngemitteln (selbst erstellt)..... 21

Abb 18 Wachstum im Beet und im Topf (selbst erstellt) 22

Abb 19 erste Blüte der Stevia im Beet (selbst erstellt)..... 22

Abb 20 Stevia im Beet; links: ohne Düngung, rechts: mit Pferdemist gedüngt (selbst erstellt)..... 23

Abb 21 Stevia im Freiland-Topf (selbst erstellt) 23

Abb 22 Großflächiger Anbau auch in Deutschland? Australien gibt ein Beispiel..... 24
http://www.freestevia.de/pics/stevia_australia.jpg [06.10.12]

Abb 23 Stevia-Stecklinge..... 25
http://www.heimann-telecom.de/stevia201104.jpg [06.10.12]

Abb 24 Abmoosen (Markottieren) an Stevia rebaudiana (selbst erstellt) 26

Abb 25 In-vitro-Kultur von Stevia (selbst erstellt) 27

Abb 26 Schnitt von Stecklingen (selbst erstellt) 28

Abb 27 Stecklinge in Steckschale (selbst erstellt)..... 29

Abb 28 Verpflanzung der angewurzelten Stecklinge (selbst erstellt) 29

Abb 29 Aufbau beim Markottieren (selbst erstellt) 30

Abb 30 Trieb ohne Wurzelbildung (selbst erstellt)..... 31

Abb 31 erfolgreiches Markottieren (selbst erstellt) 31

Abb 32 Ernte von Blättern (selbst erstellt) 33

Abb 33 Aufbau zur Trocknung der Blätter im Trocknungssieb (selbst erstellt) 33

Abb 34 Aufbau zur Trocknung in der Mikrowelle (selbst erstellt)..... 34

Abb 35 Stevia-Blätter frisch (links) und getrocknet (rechts) (selbst erstellt) 34

Abb 36 Aufbau zur Tiefkühlung frischer Blätter (selbst erstellt)..... 34

Abb 37 Stevia-Blätter vor (links) und nach (rechts) dem Tiefkühlen (selbst erstellt) 35

Abb 38 zweijährige Stevia rebaudiana aus eigenem Anbau (selbst erstellt) 36

Abb39 Isopren (selbst erstellt 39

Abb 40 Synthese von Mevalonsäure (selbst erstellt)) 39

Abb 41 Synthese von IPP und DMAPP (selbst erstellt) 40

Abb 42 Syntheseschritte zu GGPP (selbst erstellt) 41

Abb 43 Steviol (selbst erstellt) 41

Abb 44 Syntheseablauf von Steviol (selbst erstellt) 42

Abb 45 Steviosid (Steviolgrundgerüst gelb markiert) (selbst erstellt) 42

Abb 46 Grundgerüst aller Steviolglycoside (selbst erstellt) 43

Abb 47 Überblick über sechs Steviolglycoside (selbst erstellt) 43

Abb 48 Steviosid-Molekül (selbst erstellt) 44

Abb 49 enzymatische Spaltung von Steviosid (selbst erstellt) 44

Abb 50 saure Hydrolyse von Steviosid (selbst erstellt) 45

Abb 51 alkalische Spaltung von Steviosid (selbst erstellt) 45

Abb 52 Rebaudiosid A (selbst erstellt) 46

Abb 53 enzymatische Spaltung von Rebaudiosid A (selbst erstellt) 46

Abb 54 saure Hydrolyse von Rebaudiosid A (selbst erstellt) 46

Abb 55 Rubusosid (selbst erstellt) 47

Abb 56 Chinesische Brombeere (Rubus suavissimus) 47
http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/2/2a/Illustration_Rubus_pedemontanus0.jpg/220px-Illustration_Rubus_pedemontanus0.jpg [11.10.12]

Abb 57 Diterpenoide mit Labdan-Gerüst aus Stevia rebaudiana(selbst erstellt) 48

Abb 58 Campher – ein Monoterpen (selbst erstellt) 48

Abb 59 trans-β-Farnesen – ein Sesquiterpen (selbst erstellt) 48

Abb 60 β-Amyrin-Acetat (selbst erstellt) 49

Abb 61 Sterole und Steroid-Glycoside(selbst erstellt) 49

Abb 62 Struktur der Flavonoide aus Stevia rebaudiana(selbst erstellt) 50

Abb 63 β-Carotin 50
http://www2.chemie.uni-erlangen.de/projects/vsc/chemie-mediziner-neu/kohlenwasserstoffe/bilder/beta_carotin.gif [13.10.12]

Abb 64 Struktur des Chlorophylls (selbst erstellt) 50

Abb 65 Mikroskopische Untersuchung von Blatt und Blattextrakt (selbst erstellt) 52

Abb 66 Blattquerschnitt unter dem Lichtmikroskop (selbst erstellt) 53

Abb 67 Ausschnitt aus einer Blattschicht (selbst erstellt) 53

Abb 68 Steviosid-Pulver unter dem Lichtmikroskop (selbst erstellt) 54

Abb 69 Blatt-Extrakt-Pulver unter dem Lichtmikroskop (selbst erstellt) 54

Abb 70 Blatt-Extrakt-Kristall (selbst erstellt) 54

Abb 71 Aufbau zur DC (selbst erstellt) 55

Abb 72 Betrachtung der DC-Platten bei UV-Licht (selbst erstellt) 57

Abb 73 DC-Platte mit Vanillin (selbst erstellt) 58

Abb 74 DC-Platte mit Thymol (selbst erstellt) 58

Abb 75 DC-Platte mit $KMnO_4$-Lsg (selbst erstellt) 58

Abb 76 Aufbau zur ersten vergleichenden DC (selbst erstellt) 59

Abb 77 Auftragen gesättigter Stevia-Lösung auf DC-Platten (selbst erstellt) 60

Abb 78 DC-Platte nach dem Auftragen der Lösungen (selbst erstellt) 60

Abb 79 Bestandteile der Stevia-Lösung (selbst erstellt) 61

Abb 80 DC-Platte in Trennkammer (selbst erstellt) 62

Abb 81 DC-Platten mit aufgetrennten Blattbestandteilen (selbst erstellt)) 63

Abb 82 Polarität der Steviolglycoside aufgrund der gebundenen Zucker (selbst erstellt). 64

Abb 83 Analyse der aufgetrennten Steviolglycoside (selbst erstellt) 64

Abb 84 Tee aus Stevia Blättern (selbst erstellt) 66

Abb 85 Schema der Extraktionsschritte (selbst erstellt) 67

Abb 86 Wichtige Materialien beim Auskochen (selbst erstellt) 68

Abb 87 Eindampfen des Stevia-Extrakts (selbst erstellt) 69

Abb 88 Stevia-Extrakt: links Sirup, rechts Pulver (selbst erstellt) 69

Abb 89 (Theoretische) Polymerisation beim Erhitzen (selbst erstellt) 70

Abb 90 Aufbau zur Herstellung eines Rohextrakts auf Ethanol-Basis (selbst erstellt) ... 72

Abb 91 alkoholischer Rohextrakt aus Stevia-Blättern (selbst erstellt) 73

Abb 92 Soxhlet-Extraktion mit Stevia-Blatt-Pulver und Ethanol (selbst erstellt) 73

Abb 93 Reinigung des Stevia-Rohextrakts: Kalkfällung (selbst erstellt) 74

Abb 94 Rohextrakt (selbst erstellt) 75

Abb 95 ausfallender Niederschlag (selbst erstellt) 76

Abb 96 olivgrüner Rückstand (selbst erstellt) 76

Abb 97 gelbbraunes Filtrat (selbst erstellt) 76

Abb 98 zweiter Kalkfällungs-Versuch (selbst erstellt) 77

Abb 99 Aufbau zur Reinigung mit Aktivkohle (selbst erstellt) 78

Abb 100 Adsorption blauer Tinte: rechts mit Aktivkohle 79

Abb 101 Adsorption von Stevia-Extrakt: rechts mit Aktivkohle (selbst erstellt) 79

Abb 102 Aufbau zur herkömmlichen Reinigungsmethode (selbst erstellt) 80

Abb 103 Phasenbildung im Scheidetrichter (selbst erstellt) 81

Abb 104 Auftrennung der iso-Butanol-Phase (selbst erstellt) 82

Abb 105 Steviolglycosid-Gemisch in Eindampfschale (selbst erstellt) 82

Abb 106 Süßstoff-Pulver (selbst erstellt) 82

Abb 107 Hitzebeständigkeit von Steviolglycosiden? (selbst erstellt) 84

Abb 108 Zersetzung von Steviosid in erhitzter, wässriger Lösung (selbst erstellt) 84

Abb 109 Zersetzung von Rebaudiosid A in erhitzter, wässriger Lösung (selbst erstellt) 85

Abb 110 β-Glucosidase 85
http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/0b/Beta_glucosidase_3AHX.png [21.10.12]

Abb 111 Aufbau zum Stabilitätstest: Temperatur (selbst erstellt)..... 86

Abb 112 Legende GOD-Test (Angaben für Glucose in mg/dL) (selbst erstellt) 87

Abb 113 Aufbau zum Stabilitätstest: pH-Wert (selbst erstellt) 88

Abb 114 durch Säure unbrauchbarer Teststreifen (selbst erstellt)..... 89

Abb 115 Aufbau zum Stabilitätstest: Enzymatische Zersetzung (selbst erstellt) 90

Abb 116 Farbumschlag nach Enzymzugabe (selbst erstellt) 91

Abb 117 unterschiedliche pH-Werte in den drei Reagenzgläsern (selbst erstellt) 92

Abb 118 enzymatische Spaltung von Steviosid mit β-D-Glucosidase (selbst erstellt) ... 92

Abb 119 saure Reaktion der Carboxygruppe von Steviolbiosid (selbst erstellt) 92

Abb 120 Aufbau zum Kochen von Vanillepudding (selbst erstellt) 96

Abb 121 abgefüllter Vanille-Pudding (selbst erstellt)..... 98

Abb 122 Kochen von Vanille-Pudding (selbst erstellt) 98

Abb 123 Gesamtbewertung von Pudding 1 und Pudding 2 (selbst erstellt) 99

Abb 124 geschmackliche Gesamtbewertung des Stevia-Puddings (selbst erstellt).... 100

Abb 125 Zutaten Apfel-Birnen-Kuchen (selbst erstellt)..... 101

Abb 126 Apfel-Birnen-Kuchen (selbst erstellt) 103

Abb 127 repräsentative, kontrastäre Bewertungen des Apfel-Birnen-Kuchens (selbst erstellt)..... 103

Abb 128 positive Bewertungen des Apfel-Birnen-Kuchens (selbst erstellt)..... 104

Abb 129 Zutaten für Mandel-Sandkuchen (selbst erstellt) 105

Abb 130 kontrastäre Meinungen der Probanden (selbst erstellt) 106

Abb 131 Mandel-Sandkuchen (selbst erstellt) 106

Abb 132 Bewertung des Sandkuchens: „trocken“ (selbst erstellt) 106

Abb 133 Bewertung des Sandkuchens: „wenig süß“ (selbst erstellt) 106

Abb 134 Bewertung des Sandkuchens: „Nachgeschmack“ und „Bitterkeit“ (selbst erstellt) 107

Abb 135 Zutaten für Tarte au citron (selbst erstellt) 108

Abb 136 Tarte au citron (selbst erstellt) 109

Abb 137 Zutaten für Vanille-Glückskekse (selbst erstellt) 110

Abb 138 Stevia-Vanille-Glückskekse (selbst erstellt) 111

Abb 139 notierte Meinungen zu Stevia-Vanille-Glückskeksen (selbst erstellt) 111

Abb 140 Zutaten für Zitronenkuchen (selbst erstellt) 112

Abb 141 Zitronenkuchen in Backform (selbst erstellt) 113

Abb 142 sechs identische Zitronenkuchen beim Auskühlen (selbst erstellt) 113

Abb 143 Bevorzugung des „Stevia“-Kuchens (selbst erstellt) 114

Abb 144 geschmackliche Gesamtbewertung der Placebo-Kuchen (selbst erstellt) 115

Abb 145 Schematisch-unvollständiger Abbau von Rebaudiosid A über Steviolbiosid (selbst erstellt) 117

Abb 146 Schematisch-unvollständiger Abbau von Rebaudiosid A über Rubusosid (selbst erstellt) 118

Abb 147 Schema des enterohepatischen Kreislaufs 119
http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e0/Grafik_enterohepatischerkreislauf.jpg. [27.10.12]

Abb 148 Ausscheidung der Steviolglycoside bei Mensch und Ratte (selbst erstellt) ... 119

Abb 149 Steviol-16,17-epoxid (selbst erstellt) 120

Abb 150 Kariesbefall an Zähnen durch übermäßigen Zuckerkonsum 122
http://www.planet-wissen.de/natur_technik/anatomie_mensch/zaehne/img/rat_zaehne_karies_g.jpg [27.10.12]

Abb 151 mögliche Zentren mutagener Wirkung (selbst erstellt) 123

Abb 152 Stevia – ja oder nein? (selbst erstellt) 124

Abb 153 Formen käuflicher Stevia-Süßstoffe (selbst erstellt) 125

nach:
http://www.stevia-trinken.de/images/stevia-staengel.jpg [27.10.12]
http://images.ichkoche.at/data/image/1/9960.jpg [27.10.12]
http://www.prohviant.de/bilder/produkte/gross/Steviapulver-60g.jpg [27.10.12]
http://www.stevie-sladka.eu/galerie/stevia-sirup_max_1330949788.jpg [27.10.12]
http://www.docmorris.de/images/9638129_b.jpg [27.10.12]
http://zahnfreundchen.de/media/catalog/product/cache/1/image/9df78eab33525d08d6e5fb8d27136e95/s/t/stevia_tabs_300.jpg [27.10.12]

Abb 154 Produkte mit Steviolglycosiden auf dem (deutschen) Markt (selbst erstellt) 127
nach:
http://blog.lebensmittel.de/wp-content/uploads/2011/12/0813314010487-Nevella-Stevia-Sticks1-244x300.jpg [27.10.12]
http://www.kaffeeshop24.de/documents/products/Zoom/Real-Stevia-Streusuesse-Sticks-Beutel-_13427_1.jpg [27.10.12]
http://www.mfcfarmaceutici.it/images/nevella-stevia-streusa-1-4-sse-.jpg [27.10.12]
http://ecx.images-amazon.com/images/I/51R1Bfb-X5L._SL160_AA160_.jpg [27.10.12]
http://www.naturkosmetik-deutschland.de/catalog/images/steviatsweet_tabs_GSE.jpg [27.10.12]
http://shop.kaffee.net/images/produkte/i11/1198-Zentis-Stevia-Leichte-Fr--chte-S.jpg [27.10.12]
http://ecx.images-amazon.com/images/I/51FNASrtFAL.jpg [27.10.12]
http://www.stevia-world.de/wp-content/uploads/2011/03/stevia-joghurt.png [27.10.12]
http://www.codecheck.info/img/603149/1 [27.10.12]
http://www.stadionwelt-business.de/images/news/1328529388.jpg [27.10.12]
http://www.frau-shopping.de/wp-content/uploads/2012/05/haribo-stevia-lakritz.jpg [27.10.12]
http://shop.apotal.de/images/products/apotal/mittel/9706687_m.jpg [27.10.12]

Abb 155 Zahnpasta mit Stevia 128
http://essen-bestellen.info/wp-content/507181_original_R_K_B_by_Alexandra-H._pixelio.deb_-670x370.jpg [27.10.12]

Abb 156 Aufbau zum Klebstoff-Versuch (selbst erstellt)..... 129

Abb 157 aufgeklebtes Papier (selbst erstellt)..... 130

Abb 158 Modell zum Kleben verschiedener Einzelteile (selbst erstellt) 130

Abb 159 mit Stevia-Rohextrakt geklebte Materialien (selbst erstellt)..... 130

Abb 160 Materialien beim Stevia-Anbau (selbst erstellt) 136

Abb 161 Anzuchtgefäß auf Fensterbank (selbst erstellt) 136

Abb 162 Entwicklung angesäter Stevia rebaudiana (selbst erstellt) 137

Abb 163 Längenwachstum von Stevia rebaudiana (selbst erstellt) 137

Abb 164 Messdaten Höhenwachstum Anbau 2.1 (selbst erstellt) 139

Abb 165 Messdaten Höhenwachstum Anbau 2.2 (selbst erstellt) 140

Abb 166 Messdaten Höhenwachstum Anbau 2.3 (selbst erstellt) 141

Abb 167 Messdaten Höhenwachstum Anbau 2.4 (selbst erstellt) 142

Abb 168 Messdaten Höhenwachstum Anbau 2.5 (selbst erstellt) 143

Abb 169 Messdaten Höhenwachstum Anbau 2.6 (selbst erstellt) 143

Abb 170 Einteilung und Abtrennung von Einzelbeeten (selbst erstellt) 144

Abb 171 abgetrennte Beete (selbst erstellt) 144

Abb 172 Ausbringung von Dünger in die Beete (selbst erstellt) 145

Abb 173 DC-Platte Laufmittel Gemisch 3:1:1 (selbst erstellt) 148

Abb 174 DC-Platte Laufmittel Ethanol (selbst erstellt)..... 148

Abb 175 DC-Platte Laufmittel Propan-2-ol (selbst erstellt) 148

Abb 176 Bewertungsbogen zum Geschmackstest mit Vanille-Pudding (selbst erstellt) 151

Abb 177 Bewertungsbogen Geschmackstest Placebo-Zitronenkuchen (selbst erstellt).... 157

10.2 Tabellenverzeichnis

Tab 1 Auswahl verfügbarer Süßstoffe (selbst erstellt) 6

Tab 2 Triebzahl fünf ausgewählter Stevia (Mitte September) (selbst erstellt) 22

Tab 3 Beobachtung und Auswertung der DC: Betrachtung mit UV-Lampe (selbst erstellt) 57

Tab 4 Laufmittel der zweiten vergleichenden DC (selbst erstellt) 62

Tab 5 Beobachtungen beim Erhitzen (selbst erstellt) 87

Tab 6 Süßkraft der Steviolglycoside (selbst erstellt) 94

Tab 7 Zusammensetzung der Testgruppe (selbst erstellt) 97

Tab 8 Zusammensetzung der Testpersonen (selbst erstellt) 102

Tab 9 Bewertung der Placebo-Kuchen (selbst erstellt) 114

Tab 10 mit Stevia gesüßte Nahrungsmittel (selbst erstellt) 126

Tab 11 Höchstmenge und verzehrte Menge an Stevioläquivalenten (selbst erstellt) 126

Tab 12 Messung des Höhenwachstums (selbst erstellt) 138

Tab 13 Messdaten Höhenwachstum im Beet aus Anbau 2 (selbst erstellt) 146

Tab 14 Messdaten Höhenwachstum im Topf aus Anbau 2 (selbst erstellt) 147

Tab 15 Messdaten Umfang der Pflanzen im Beet aus Anbau 2 (selbst erstellt) 147

Tab 16 DC-Platten der zweiten vergleichenden DC (selbst erstellt) 150

Tab 17 Beobachtungsbilder des Stabilitätstests: pH-Wert (selbst erstellt) 150

Tab 18 Datenerhebung beim Geschmackstest mit Vanillepudding (selbst erstellt) 153

Tab 19 Bewertungen des Apfel-Birnen-Kuchens (selbst erstellt) 155

Tab 20 Bewertungen Mandel-Sandkuchen (selbst erstellt) 156

Tab 21 Datenerhebung beim Geschmackstest mit Placebo-Zitronenkuchen (selbst erstellt) . 158

11 ERKLÄRUNG ZUM SELBSTSTÄNDIGEN ERARBEITEN DER SEMINARARBEIT

Ich erkläre hiermit, dass ich die Seminararbeit ohne fremde Hilfe angefertigt und nur die im Abbildungs-, Internet- und Literaturverzeichnis aufgeführten Quellen und Hilfsmittel benützt habe.

----------, den ----------
Ort *Datum*

Unterschrift der Verfasserin