

cb

Bibliotheek
Proefstation
Naaldwijk

A
2
B
50

/besauber
PROEFSTATION VOOR TUINBOUW ONDER GLAS

BIBLIOTHEEK
PROEFSTATION VOOR TUINBOUW
ONDER GLAS TE NAALDWIJK

Nader chemisch onderzoek inzake kelkverdroging bij aubergines

auteur: S. S. de Bes

Naaldwijk, november 1987

Intern rapport nr. 1

222 1851

A
2
B
50

Inhoudsopgave

	pagina
1. Inleiding	3
2. Onderzoek	
2.1 Calcium en Oxalaat	3
2.2 Borium	4
2.3 Suikers	5
3. Samenvatting	6
4. Onderzoekvoorstellen	7
5. Literatuur	7

Tabellen 1 tot en met 4

1. Inleiding

Chemisch gewasonderzoek van auberginekelken heeft aangetoond dat in de droge stof van verdroogde kelken met name meer calcium en nitraat wordt aangetroffen dan in gezonde kelken. Tevens is daarbij gebleken dat calciumgehalten toenemen voor respectievelijk de kelkonderdelen; bodem-centrum-rand, terwijl de nitraatgehalten juist afnemen in deze volgorde. In tabel 1 is een overzicht van deze analyseresultaten gegeven.

Een vervolgend onderzoek naar mogelijke oorzaken cq. chemische mechanismen die bij kelkverdroging een rol spelen is als volgt geformuleerd.

Een veronderstelling als zou de vorming van calciumoxalaat (mede)-oorzaak zijn, is getracht door middel van analyses te verifiëren. Auberginevruchten kunnen relatief veel oxalaat bevatten, hetgeen gebleken is tijdens een proefplaatsing van ionchromatografische apparatuur. In vruchten is na extractie van de droge stof, ongeveer 75 mmol oxalaat per kg gevonden, dit is tweemaal meer dan in paprikavruchten en driemaal meer dan in tomatenvruchten. In paprikabladdat 10 maal meer dan in paprikavrucht dus zou in aubergineblad (dus ook in kelken) veel oxalaat aanwezig kunnen zijn.

Tevens is door onderzoek nagegaan of borium (mede) een rol speelt in het geheel. Calciumboraten zijn eveneens slecht oplosbaar, bovendien is in de rand van de kelk 4 à 5 maal meer borium aangetroffen (ca. 10 mmol.kg⁻¹) dan in de overige kelkdelen, hetgeen overigens geldt voor zowel zieke als gezonde kelken.

Tenslotte is getracht om een extern geuite suggestie te checken, volgens welke mogelijk suikers een rol spelen.

2. Onderzoek

2.1. Calcium en Oxalaat

Aangezien een directe bepalingmethode voor oxalaat niet direct voor handen was, is het onderzoek als volgt verricht. De gebruikelijke analyse van calcium is een totaal-analyse waarbij eventueel aanwezig calciumoxalaat wordt meebepaald. Door nu naast de totaalbepaling een tweetal extracties te verrichten kan enig inzicht worden verkregen in de oplosbaarheid van de aanwezige calciumverbindingen. Door als extractiemiddel water te kiezen zullen de gemakkelijk oplosbare calciumzouten oplossen. Door vervolgens 1 molair sterk zuur te kiezen zal in ieder geval eventueel aanwezig calciumoxalaat extra in oplossing gaan. Aangezien zowel gezond als ziek gewas van vergelijkbare objecten aanwezig is, is het door onderling vergelijken van de uitkomsten van zowel de extraheerbare alsmede van de totaalbepalingen, wellicht mogelijk enig inzicht te verkrijgen in de rol die oxalaat mogelijk speelt. Extracties van 1 gram luchtdroog gewas met 100 ml ged.H₂O respectievelijk H₂SO₄ 1 M zijn verricht.

Analyses van Ca door middel van vlam-AAS na additie van 5000 mg LaCl₃ per liter, gaven de resultaten volgens tabel 2.

Uit tabel 2 blijkt dat:

- water-oplosbaar-calcium in gezonde kelkdelen per bemonstering vrijwel constant is.
- water-oplosbaar-calcium in zieke kelkdelen evenredig toeneemt met totaal-calcium.
- zuur-oplosbaar-calcium in gezonde kelkdelen van bodem tot rand

- enigszins afneemt, evenals dat bij totaal-calcium het geval is.
- zuur-oplosbaar-calcium in zieke kelkdelen van bodem tot rand aanzienlijk toeneemt evenredig aan totaal calcium.
 - de hoeveelheid water-oplosbaar-calcium bij gezonde kelkdelen is een vrij constante fraktie van het totaal-calcium 6-11% bij de zieke kelkdelen, bodem ca 12,5% en bij centrum en rand 23-28%
 - de hoeveelheid zuur-oplosbaar-calcium fluctueert relatief gezien, nauwelijks te weten voor gezonde kelken 62-67% en voor zieke kelken 67-73% van het totaal calcium.

De verschillen in oplosbaarheid van het calcium komen meer tot uitdrukking bij beschouwing van de absolute hoeveelheden, dan bij beschouwing van relatieve hoeveelheden ten opzichte van het totaal-calcium-gehalte. Dit duidt op een oorzaak waarbij sprake is van een teveel aan één of meerdere calcium componenten dan op verschillen in de verschijningsvorm.

Een schatting van oxalaatgehalten is slechts zeer globaal mogelijk door de verschillen tussen zuur-oplosbaar-calcium en water-oplosbaar-calcium te duiden als opgelost calciumoxalaat. In tabel 3 zijn deze geschatte oxalaatgehalten vermeld. Uit deze tabel kan worden verondersteld dat wel degelijk calcium-oxalaat een rol van betekenis speelt.

Getracht is dat te verifiëren door middel van oxydimetrische titraties. Zowel waterige als zure extracten zijn rechtsteeks getitreerd met KMnO_4 .

In de waterige extracten zou vrij oxaalzuur en de oxalaten van kalium en natrium kunnen worden bepaald terwijl in de zure extracten de moeilijker oplosbare oxalaten worden bepaald. Nadeel is evenwel dat alle oxydeerbare componenten worden meebepaald. Gebleken is dat via directe titratie met KMnO_4 geen indicatie van het oxalaatgehalte is te verkrijgen. De resultaten zijn willekeurig en nauwelijks reproduceerbaar. De Rijke en Van de Veer 1984, beschrijven een dergelijke methode voor rabarber en spinazie, waarbij zij naast isolatie van de oxalaten uit waterige en zure extracten tevens uitgaan van vers gewas in plaats van droge stof.

Nawerking van deze methode biedt zeker perspectieven, hoewel ook te denken valt aan zowel een methode door middel van vloeistofchromatografie (Waters 1982) als aan een biochemische UV-methode (Boehringer 1986). Deze laatstgenoemde methoden sluiten analyse in de droge stof niet uit en aangezien het huidige monstermateriaal in deze vorm aanwezig is, ligt de toepassing van deze methoden, op korte termijn, voor de hand.

2.2. Borium

Zowel de waterige als de zure extracten zijn geanalyseerd op borium. De resultaten hierbij verkregen zijn weinig betrouwbaar; aangezien de eigen kleur van de extracten relatief een grote correctie vergen van de meetresultaten. De azomethine-H-methode is voor dit doel minder geschikt. Evenwel als de analyseresultaten slechts in algemene zin worden beschouwd dan valt op dat bij waterige extracten alleen enig borium op uit de kelkrand wordt gevonden. De zure extracten geven beduidend meer borium van alle kelkdelen waarbij de overschrijding van het totaal-borium moet worden toegeschreven aan de onbetrouwbaarheid van de meetmethode. Niettemin bestaat de tendens dat naarmate meer borium aanwezig is in de kelkdelen er meer in het zure extract oplost. Tussen zieke en gezonde kelken zijn evenwel geen verschillen gevonden. In tabel 4 zijn deze resultaten vermeld alsmede, ter vergelijking die van een tweetal controlemonsters tomatenblad en komkommerblad. Opmerkelijk dat vooral de beide controlemonsters geen verschil tonen

tussen waterige en zure extractie en dat tevens het totaal-borium niet wordt benaderd.

2.3. Suikers

De ervaringen met chemische methoden voor de bepaling van suikers in planten is minimaal.

In 1965 is in perssap van tomatestelen, na diepvriezen circa 38 mg glucose per ml sap gevonden volgens Luff-Schoorl.

In 1977-1978 is op dezelfde wijze aarbeiblad/steel geanalyseerd, hetgeen een bepaald verloop tijdens de teelt aangaf. Een vergelijking met de refraktormetermethode gaf geen overeenstemmende resultaten.

Aangezien in eerste instantie de behoefte bestaat om bij de auberginekelken te checken op eventuele grote verschillen is volstaan met enkele oriënterende refraktometerwaardebepalingen van zowel waterige als zure extracten.

De 1:50 extracten met water van de kelkbodem monsters gaven ongeveer 0.5% sucrose en de 1:50-extracten met H_2SO_4 1 M gaven ongeveer 8.0% sucrose, zij het dat de blankocorrectie à 7.4% er voor zorgde dat het netto-resultaat gelijk was.

Aangezien dit verder geen perspectief biedt, omdat refractie een maat is voor de aanwezigheid van componenten met een bijdrage aan de brekingsindex van een extract is hier verder van afgezien.

Wellicht dat zonodig een der glucose-fructose-bepalingen beschreven door Pluymen, 1987, een antwoord zou kunnen geven op de vraag naar de eventuele invloed van suikers op de kelkverdroging.

3. Samenvatting

Naar aanleiding van chemisch gewasonderzoek inzake de problemen rondom kelkverdrogen bij aubergine, is nader onderzoek ingesteld.

Uit een vergelijking tussen totaal-calcium, water-oplosbaar-calcium en zuur-oplosbaar-calcium blijkt dat de extraheerbare frakties aan calcium minder variëren dan de absolute hoeveelheden. Een oorzaak in de richting van calcium-oxalaat behoort nog steeds tot de mogelijkheden.

Een indirecte oxalaat-bepaling door oxydimetrische titraties is mislukt.

Een duidelijk aanknopingspunt is voor wat betreft borium, in een vergelijking zoals die met calcium, niet gevonden. Hoewel extraheerbaarborium, moeilijk bepaalbaar is, zijn tussen zieke en gezonde kelken

geen verschillen gevonden ten opzichte van totaal-borium.

Refraktiebepalingen in waterige en zure extracten gaven geen enkele aanwijzing.

4. Onderzoekvoorstellen

1. In het thans beschikbaar monstermateriaal trachten specifieke oxalaatbepalingen te verrichten door middel van HPLC of anderszins.
2. Zo nodig nieuwe monsters verzamelen en deze als vers gewas te analyseren op oxalaat.
3. Zo daar nog enige aanleiding toe bestaat in de nieuwe monsters trachten specifieke suikers te analyseren door middel van HPLC of biochemische methoden.

S.S. de Bes
Chemisch Laboratorium, PTG
november 1987

Literatuur:

- Rijke, P.J. de - en W. v.d. Veer, 1984
Bepaling van het oxaalzuurgehalte van rabarber en spinazie.
Faraday, juni/juli, 35-37.
- Pluijmen, M.H.M., 1987
Sugar analysis with the Shaffer-Somogyi micro-analysis, HPLC and enzymetic analysis in crop samples. Comm. in Soil Sci. Plant Anal., 18 (9), 1049-1059.
- Boehringer Mannheim GMBH, 1986
Oalic acid UV-method, for the determination of oxalic acid in foodstuffs and other materials.
- Waters Technical Bulletin, 1982
Analysis of organic acids 82504/L01/may 1982

Tabel 1: Chemische analyse van auberginekelken.

objekt	ziek		gezond		ziek/gezond	
	Ca mmol.kg ⁻¹	NO ₃	Ca mmol.kg ⁻¹	NO ₃	Ca	NO ₃
bodem 2	292	1820	264	1560	1.11	1.17
bodem 1	286	1745	220	1365	1.30	1.28
centrum 2	371	1525	238	1020	1.56	1.50
centrum 1	380	1500	204	790	1.86	1.90
rand 2	394	1080	210	575	1.88	1.88
rand 1	440	1265	180	475	2.44	2.66
m	360	1489	219	964	-	-

N.B. 1) bemonsteringen maart 1987

2) bemonsteringen april 1987

Tabel 2: Calcium in auberginekelken na extractie van 1 gram lucht droog gewas met respectievelijk 100 ml H₂O en 100 ml H₂SO₄ 1 M.

Objekt	H ₂ O mmol per kg stoof	H ₂ SO ₄ 1 M droog gewas	Totaal
gezond-bodem-1	15	148	220
ziek-bodem-1	33	198	286
Δ b 1	18	50	66
gezond-centrum-1	13	129	204
ziek-centrum-1	93	266	380
Δ c 1	80	137	176
gezond-rand-1	16	114	180
ziek-rand-1	122	321	440
Δ r 1	106	207	260
gezond-bodem-2	29	173	264
ziek-bodem-2	40	196	292
Δ b 2	11	23	28
gezond-centrum-2	24	148	238
ziek-centrum-2	93	257	371
Δ c 2	69	109	133
gezond-rand-2	20	131	210
ziek-rand-2	92	277	394
Δ r 2	72	146	184

Tabel 3: "Schatting" van calcium oxalaatgehalten in auberginekelken op basis van verschillen tussen zuur- en water-oplosbaar-calcium van de droge stof.

Objekt	Ca-Oxalaat mmol.kg ⁻¹
gezond-bodem-1	133
ziek-bodem-1	165
Δ	32
gezond-centrum-1	116
ziek-centrum-1	173
Δ	57
gezond-rand-1	98
ziek-rand-1	199
Δ	101
=====	
gezond-bodem-2	144
ziek-bodem-2	156
Δ	12
gezond-centrum-2	124
ziek-centrum-2	164
Δ	40
gezond-rand-2	111
ziek-rand-2	185
Δ	74

Tabel 4: Globale boriumgehalten in auberginekelken na extractie van 1 gram luchtdroog gewas met respectievelijk 100 ml H₂O en 100 ml H₂SO₄ 1 M.

Objekt	H ₂ O mmol per kg stoofdroog gewas	H ₂ SO ₄	Totaal
gezond-bodem-1	+ 0.2	+ 1.4	2.16
ziek-bodem-1	+ 0.5	+ 1.6	2.20
gezond-centrum-1	< 0.1	+ 3.2	3.01
ziek-centrum-1	+ 1.0	+ 4.1	2.78
gezond-rand-1	+ 6.1	+ 11.6	10.46
ziek-rand-1	+ 6.4	+ 12.2	9.63
=====			
gezond-bodem-2	+ 0.6	+ 2.2	2.18
ziek-bodem-2	+ 0.1	+ 2.4	2.22
gezond-centrum-2	< 0.1	+ 2.6	2.90
ziek-centrum-2	< 0.1	+ 3.6	2.94
gezond-rand-2	+ 6.8	+ 13.4	10.68
ziek-rand-2	+ 5.5	+ 12.5	9.82
=====			
tomateblad (S8502)	+ 1.2	+ 1.4	3.45
KK-blad (S8602)	+ 2.7	+ 2.7	8.27