

Die Heterogenität der biologischen Ressource
Rohkakao
(*Theobroma cacao* L.)

Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
– Dr. rer. nat. –

des Departments Biologie
der Fakultät für Mathematik,
Informatik und Naturwissenschaften
der Universität Hamburg

vorgelegt von
Christina Rohsius
aus Hamburg

Hamburg, 2007

Genehmigt vom Department Biologie
der Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften
an der Universität Hamburg
auf Antrag von Professor Dr. R. LIEBEREI
Weiterer Gutachter der Dissertation:
Herr Professor Dr. D. SELMAR
Tag der Disputation: 08. Juni 2007

Hamburg, den 24. Mai 2007



A handwritten signature in black ink, consisting of several loops and a long horizontal stroke at the end.

Professor Dr. Reinhard Lieberei
Leiter des Departments Biologie

meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
2	HINTERGRUND	2
2.1	THEOBROMA CACAO L. – DER KAKAOBAUM	2
2.1.1	Systematik und ursprüngliche Verbreitungsgebiete	2
2.1.2	Biologie	5
2.1.3	Anbau, Vermehrung und Ernte	8
2.1.4	Verwendung	9
2.2	QUALITÄT UND HETEROGENITÄT VON ROHKAKAO	10
2.2.1	Verbreitungsgeschichte und Heterogenität der Genotypen	10
2.2.2	Nacherntebehandlung: Fermentation und Trocknung	15
2.2.2.1	Fermentation	15
2.2.2.2	Trocknung	18
2.2.3	Transport und Lagerung von Rohkakao	18
2.2.4	Heterogenität des jeweiligen Rohproduktes, Vermischung von Rohkakao	19
2.2.5	Parameter der Qualitätsbeurteilung	20
3	MATERIAL UND METHODEN	31
3.1	MATERIAL	31
3.1.1	Auswahl des Untersuchungsmaterials Rohkakao des Handels	31
3.1.2	Das Untersuchungsmaterial	31
3.1.3	Einordnung der Herkünfte nach dem Internationalen Kakaoabkommen in Edel- oder Konsumkakao-Anbauländer	35
3.1.4	Stadienspezifische Untersuchungen	35
3.1.4.1	Stadienspezifische Untersuchungen an 5 Jahre gelagertem Rohkakao	35
3.1.4.2	Stadienspezifische Untersuchungen an 1 Jahr gelagertem Rohkakao	35
3.1.5	Rohkakaomaterial „Criollo Merideño“ und „Porcelana“ für die Untersuchung des Gehaltes an freien Aminosäuren im Verlauf der Fermentation von Edelkakao	36
3.1.6	Samenmaterial aus Trinidad und Tobago für die Inkubationsversuche	40
3.1.7	Samenmaterial aus Trinidad und Tobago für die Untersuchung der freien Aminosäuren in unfermentierten und fermentierten Samen unterschiedlicher Klone	41
3.2	METHODEN	41
3.2.1	Warenkundliche Charakterisierung	41
3.2.1.1	Anteile der Fermentationsstadien <i>schiefbrig</i> , <i>violett</i> , <i>braun</i> und <i>hellbrechend</i> sowie durch Schimmel oder Insektenfraß beschädigte Rohkakaosamen	42
3.2.1.2	Anteile an Doppelbohnen und Fremdbestandteilen	43
3.2.1.3	Samengewicht und Samengewichtsverteilung	43
3.2.1.4	Anteil an Testa, Radikula und Kotyledonen	43
3.2.1.5	Fotografische Dokumentation	43
3.2.2	Biochemische und chemische Analysen	44
3.2.2.1	Probenvorbereitung der Handelsproben des Cocoa Atlases	44

3.2.2.2	Probenvorbereitung der stadienspezifischen Analysen aller nicht im Cocoa-Atlas verwendeten Proben (Inkubationsproben, „Criollo“- und „Porcelana“-Proben, Handelsprobe Ecu, Fermentationsproben aus Trinidad).....	44
3.2.2.3	Bestimmung des Wassergehaltes.....	44
3.2.2.4	Bestimmung des pH-Wertes.....	45
3.2.2.5	Bestimmung des Fettgehaltes und der Fettzusammensetzung.....	45
	Bestimmung des Fettgehaltes.....	45
	Bestimmung der Säurezahl.....	46
	Bestimmung des Gehaltes an freien Fettsäuren.....	46
	Bestimmung der freien Fettsäuren als Fettsäuremethylester.....	46
3.2.2.6	Bestimmung des Milch- und Essigsäuregehaltes.....	46
3.2.2.7	Bestimmung der Methylxanthine (Theobromin und Coffein).....	48
3.2.2.8	Bestimmung des Kjeldahl-Stickstoffgehaltes.....	48
3.2.2.9	Berechnung des Rohproteingehaltes.....	48
3.2.2.10	Bestimmung der Gehalte an freien Aminosäuren.....	49
3.2.2.11	Bestimmung phenolischer Substanzen.....	50
3.2.2.12	Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes nach der Folin-Ciocalteu-Methode.....	53
3.2.2.13	Bestimmung des Antioxidativen Potenzials.....	54
3.2.2.14	Aktivitätsmessung der Aspartylendoprotease.....	55
3.2.2.15	Aktivitätsmessung der Polyphenoloxidase.....	56
3.2.3	Versuchsdesign der Inkubationsversuche.....	57
3.2.3.1	Versuchsdesign.....	57
3.2.3.2	Prüfung auf Sterilität der Inkubationsmedien nach Inkubation.....	58
3.2.3.3	Kontrolle der Keimfähigkeit.....	59
3.2.3.4	Bestimmung des pH-Wertes.....	60
3.2.3.5	Probenahme und Trocknung.....	60
3.2.4	Statistische Auswertung.....	60
3.2.4.1	Varianzanalyse und Mittelwertvergleiche.....	60
3.2.4.2	Test auf Normalverteilung.....	62
3.2.4.3	Hauptkomponentenanalyse.....	63
3.2.4.4	Agglomerative Clusteranalyse.....	64
3.2.4.5	Diskriminanzanalyse.....	65
3.2.4.6	Dargestellte Streuungsmaße.....	66
4	ERGEBNISSE.....	67
4.1	WARENKUNDLICHE CHARAKTERISTIKA VON ROHKAKAO.....	67
4.1.1	Vorbemerkung.....	67
4.1.2	pH-Werte und Säuregehalte der Rohkakaoproben.....	68
4.1.2.1	pH-Wert.....	68
4.1.2.2	Essigsäuregehalte.....	70
4.1.2.3	Milchsäuregehalte.....	72
4.1.2.4	Zusammenhang zwischen pH-Wert, Essig- und Milchsäuregehalt.....	74
4.1.2.5	Zusammenfassung.....	77
4.1.3	Phenolische Substanzen.....	77
4.1.3.1	Gesamtphenolgehalt.....	77
4.1.3.2	Epicatechingehalt.....	79
4.1.3.3	Catechingehalt.....	81
4.1.3.4	Antioxidatives Potenzial.....	83
4.1.3.5	Zusammenhänge zwischen Epicatechingehalt, Catechingehalt, Gesamtphenolgehalt und dem Antioxidativen Potenzial.....	85
4.1.3.6	Zusammenfassung.....	85
4.1.4	Methylxanthine.....	85
4.1.4.1	Theobromingehalt.....	85
4.1.4.2	Coffeingehalt.....	87

4.1.4.3	Quotient aus Theobromin- zu Coffeingehalt	89
4.1.4.4	Zusammenfassung	92
4.1.5	Gehalt an freien Aminosäuren, Stickstoff- und Rohproteingehalt	93
4.1.5.1	Gesamtgehalt an freien Aminosäuren	93
4.1.5.2	Verteilung der freien Aminosäuren	96
4.1.5.3	Gehalte und Verteilung der freien Aminosäuren innerhalb der Gruppen „saure“, „hydrophobe“ und „andere“ Aminosäuren	100
4.1.5.4	Gruppe 1 „hydrophobe“ FAA: Alanin, Leucin, Phenylalanin, Tyrosin, Valin und Isoleucin am Beispiel von Alanin	103
4.1.5.5	Gruppe 2 „saure“ FAA: Asparaginsäure, Asparagin, Glutamin, Glutaminsäure, Histidin am Beispiel von Asparaginsäure	104
4.1.5.6	Gruppe 3 „andere“ FAA: Tryptophan, Lysin, Serin, Glycin, Arginin, Threonin am Beispiel von Threonin	106
4.1.5.7	γ -Aminobuttersäure	108
4.1.5.8	Theobroma grandiflorum	110
4.1.5.9	Zusammenhänge zwischen den freien Aminosäuren	110
4.1.5.10	Stickstoffgehalt	110
4.1.5.11	Rohproteingehalt	112
4.1.5.12	Zusammenfassung	113
4.1.6	Fettgehalt und Fettzusammensetzung	114
4.1.6.1	Fettgehalt	114
4.1.6.2	Fettsäurezusammensetzung	116
4.1.6.3	Palmitinsäureanteil	117
4.1.6.4	Stearinsäureanteil	119
4.1.6.5	Ölsäureanteil	120
4.1.6.6	Linolsäureanteil	122
4.1.6.7	Anteil an freien Fettsäuren	123
4.1.6.8	Gehalt an Diglyceriden	123
4.1.6.9	Triglyceride	125
	Palmitin-Ölsäure-Palmitinsäure	125
	Palmitin-Ölsäure-Stearinsäure	126
	Stearinsäure-Ölsäure-Stearinsäure	128
4.1.6.10	Zusammenfassung	129
4.1.7	Schnitt-Test	130
4.1.7.1	Gewicht der Rohkakaosamen	130
4.1.7.2	Homogenität der Proben: das Samengewicht	132
4.1.7.3	Gewichtsanteile von Kotedonen, Radikula und Testa (mit Pulparesten)	135
4.1.7.4	Anteile der Fermentationsstadien <i>schiefbrig</i> , <i>violett</i> und <i>braun</i>	139
	Anteil an <i>schiefrigen</i> und <i>violetten</i> Samen	140
	Anteil an <i>hellbrechenden</i> und <i>hellbraunen</i> Samen	142
	Anteil an <i>braunen</i> Samen	143
	Besonderheit der Fermentationsstadien mit mehreren Farbzonen	144
	Schimmelbefallene Rohkakaosamen	145
	Insektenbefallene Rohkakaosamen	146
	Gekeimte Rohkakaosamen	146
	Doppelte Rohkakaosamen	146
4.1.8	Bivariate und multivariate Zusammenhänge zwischen den Variablen	147
4.1.8.1	Bivariate Zusammenhänge zwischen den Variablen	147
4.1.8.2	Multivariate Zusammenhänge zwischen den Variablen	150
4.1.8.3	Zusammenfassung	153
4.1.9	Unterschiede zwischen Rohkakao unterschiedlicher Herkunft sowie zwischen Edel- und Konsumkakao mittels multifaktorieller Analysen	153
4.1.10	Zusammenfassung Kapitel 4.1: Warenkundliche Charakteristika von Rohkakao	158

4.2	UNTERSUCHUNG VON FERMENTATIONSSTADIEN	160
4.2.1	Vorbemerkung.....	160
4.2.2	Zusammensetzung der untersuchten Rohkakaos.....	160
4.2.3	pH-Wert der Fermentationsstadien.....	161
4.2.4	Residualaktivitäten ausgewählter Enzyme in Samen unterschiedlicher Fermentationsstadien.....	161
4.2.4.1	Aktivität der Aspartylendoprotease	161
4.2.4.2	Aktivität der Polyphenoloxidase	162
4.2.5	Phenolische Substanzen der Fermentationsstadien.....	163
4.2.5.1	Epicatechin und Catechingehalt in Fermentationsstadien.....	163
4.2.5.2	Gehalte an Cyanidin-3-arabinosid und Cyanidin-3-galactosid in Fermentationsstadien	164
4.2.6	Gehalt an freien Aminosäuren (FAA) im Verlauf der Fermentation von Edelkacao.....	165
4.2.7	Gehalt an freien Aminosäuren in unfermentierten und 7 Tage fermentierten, getrockneten Rohkakaosamen unterschiedlicher Genotypen	166
4.2.8	Zusammenfassung.....	167
4.3	INKUBATION UNTER FERMENTATIONSÄHNLICHEN BEDINGUNGEN UND AUSWIRKUNG DER TROCKNUNG	168
4.3.1	Vorbemerkung.....	168
4.3.2	Veränderung des pH-Wertes der Samen im Verlauf der Inkubation und nach anschließender Trocknung.....	169
	pH-Werte der Samen ohne Trocknung.....	169
	pH-Werte der Samen nach Trocknung	170
4.3.3	Schnitt-Bilder getrockneter Inkubationsproben	172
4.3.4	Veränderung der FAA-Gehalte im Verlauf der Inkubation und anschließender Trocknung.....	173
	Einfluss der Testa	173
	Einfluss der Trocknung	174
	Unterschiede zwischen den Versuchen	174
4.3.5	Veränderung der Epicatechin-, Catechin- und Coffeingehalte im Verlauf der Inkubation und anschließender Trocknung	176
	Einfluss der Trocknung	176
4.3.6	Veränderung der Cyanidin-3-arabinosid- und Cyanidin-3-galactosid-Gehalte in getrockneten Inkubationsproben im Verlauf der Inkubation.....	177
4.3.7	Veränderung der Theobromin- und Coffeingehalte im Verlauf der Inkubation und anschließender Trocknung.....	178
	Einfluss der Trocknung	178
	Einfluss der Testa.....	178
4.3.8	Veränderung der Polyphenoloxidase-Aktivität von getrockneten Inkubationsproben im Verlauf der Inkubation.....	180
4.3.9	Veränderung der Aspartylendoprotease-Aktivität von getrockneten Inkubationsproben im Verlauf der Inkubation	181
4.3.10	Zusammenfassung.....	182
5	DISKUSSION	184
5.1	EINFLUSSGRÖßEN, DIE ÜBER DIE ROHKAKAOQUALITÄT ENTSCHIEDEN.....	184
5.1.1	Qualität	184
5.1.2	Einflussfaktoren: Genotyp, Standort und Reifezustand: Unterschiede zwischen den Großgruppen Criollo, Trinitario und Forastero	185
5.1.3	Nacherntebehandlungen: Fermentation und Trocknung.....	189
5.1.4	Variabilität der Rohkacaoqualität	190

5.2	MIT DEN QUALITÄTSSTUFEN BZW. FERMENTATIONSSTADIEN EINHERGEHENDE PRODUKTCHARAKTERISTIKA	193
5.3	REPRODUKTION VON PROZESSEN DER FERMENTATIONSABLÄUFE IM LABOR.....	195
5.4	PERSPEKTIVEN IN DER ENTWICKLUNG DER ROHKAKAOQUALITÄT.....	196
6	ZUSAMMENFASSUNG	197
7	VORVERÖFFENTLICHUNG DER DISSERTATION.....	199
8	VERZEICHNISSE.....	200
8.1	ABKÜRZUNGEN	200
8.2	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	204
8.3	TABELLENVERZEICHNIS.....	208
8.4	LITERATURVERZEICHNIS	209
9	DANKSAGUNG.....	218
10	ANHANG.....	220

1 Einleitung

Rohkakao ist ein sehr gefragter biologischer Rohstoff. Er unterliegt hinsichtlich Anbau, Aufarbeitung und Transport unterschiedlichsten Einflussgrößen.

Die biologischen Hintergründe der Kakaoqualität sind trotz intensiver Analyse bis heute nur unvollständig bekannt. Ein wesentlicher Ansatz zur wissenschaftlichen Differenzierung des Rohstoffes ist die sorgfältige molekulare Analyse der Kakaogenotypen und die daran gekoppelte Studie, wie sich die Inhaltsstoffe des Kakaosamens von der Fruchternte über die Prozessierung bis zur Rohkakaoverschiffung und Rohkakaolagerung verändern.

Die Analyse des Rohkakaos bildet eine Möglichkeit, an dem bereits veränderten Material wertbestimmende Merkmale zu erfassen und diese zur Qualitätsbeschreibung zu verwenden.

Die vorliegende Arbeit widmet sich daher der Frage, wie heterogen in Deutschland gehandelter Rohkakao aus unterschiedlichen Herkünften bezogen auf die wertgebenden Eigenschaften Säuregehalt, Gehalte an phenolischen Substanzen, Coffein- und Theobromingehalt, Gehalte an freien Aminosäuren, Stickstoffgehalt, Fettgehalt, Fermentationsgrad (Schnitt-Test), Samengewicht und Samengewichtsverteilung sowie Enzymaktivitäten (Polyphenoloxidase und Aspartylendoprotease) ist. Weiterhin wird untersucht wie heterogen die Handelsware innerhalb einer Partie ist.

Hierbei wird insbesondere Wert darauf gelegt,

- wie stark und in welchen der untersuchten Eigenschaften sich Rohkakao unterschiedlicher Herkunft und unterschiedlicher Fermentationsgrade unterscheidet
- ob und inwieweit über diese biochemischen und physikalischen Analysen von prozessiertem Rohkakao Aussagen zu den Vorgängen gemacht werden können, die frisch geerntete Samen bis zu ihrer Endbestimmung als Handelsgut durchlaufen
- ob es Indikatoren (Inhaltsstoffe, Kombinationen von Inhaltsstoffen) gibt, die Rückschlüsse auf bestimmte Qualitätsaussagen, Einflussfaktoren (genetische Herkunft, Standortfaktoren der Pflanzung, Trocknung...) oder Herkünfte zulassen.

Als experimentelle Basis dienten 122 Rohkakao-Handelsproben aus 22 Ländern, die im Rahmen des Projektes „Kakaobohnenprüfung 2000“ analysiert wurden (LIEBEREI & ROHSIUS, 2002). Weiterhin wurden unfermentierte und unter definierten Bedingungen fermentierte Edelkakaoproben untersucht.

Kombiniert werden diese Studien an dem äußerst heterogenen Rohkakao mit einer Serie von Modellfermentationen, über die Rückschlüsse auf das frische Material und die prozessierte Handelsware möglich werden.

2 Hintergrund

Weltweit wurden 2005/6 3,21 Mio. Tonnen Rohkakao mit einem Handelswert von 2,5 Mrd. Euro produziert. Damit gehört der Kakaobaum neben Kaffee zu den wichtigsten Weltwirtschaftspflanzen. Für viele der über 60 Länder, in denen Kakao angebaut wird, ist Rohkakao eines der wichtigsten Exportgüter. Ein Großteil des Rohkakaos wird auch heute noch in Europa und Nordamerika und nicht in den Rohkakao produzierenden Ländern in die Zwischenprodukte Kakaomasse, Kakaobutter und Kakaopulver verarbeitet. Dabei stand die Bundesrepublik Deutschland 2004 mit 238.000 Tonnen verarbeitetem Rohkakao nach den Niederlanden, den USA und der Elfenbeinküste an 4. Stelle. Die genaue und normierte Qualitätsprüfung, Beschreibung und Einordnung der Handelsware spielt entsprechend für Rohkakaohändler, Lagerhalter, Transporteure und Verarbeiter eine wichtige Rolle – auch um auf eventuell auftretende Marktveränderungen reagieren zu können.

Welche der Eigenschaften für die Beschreibung und Bewertung der Qualität von Rohkakao herangezogen werden, hängt davon ab, an welchem Punkt der Produktions-, Handels- und Verarbeitungskette geprüft wird und für welchen Zweck der Rohkakao verwendet wird. Entsprechend werden auch unterschiedliche Kriterien und Qualitätsparameter zur Bewertung genutzt. Einige Beispiele sind die Reinheit der Ware (Fremdpartikel, Insekten- und Schadpilzbefall), das Samengewicht (im Handel als Bohngewicht bezeichnet), der Fettgehalt, die Farbe und das Aromapotenzial.

Daneben steigt seit einigen Jahren das Interesse für sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe kontinuierlich an. Im Zentrum des Interesses stehen dabei vor allem die phenolischen Substanzen, denen besondere gesundheitsfördernde Eigenschaften nachgesagt werden (WOLLGAST & ANKLAM, 2000a, 2000b; WOLLGAST, 2004; HOLLENBERG, 2000).

Die Eigenschaften der biologischen Ware Rohkakao werden durch viele Faktoren wie u. a. den Genotyp, den Reifegrad der Früchte, die Art und Weise der Nachernteverfahren Fermentation und Trocknung und die Bedingungen während des Transportes und der Lagerung beeinflusst.

Die folgenden Kapitel geben einen Überblick über die Eigenschaften des Kakaobaumes, die Hintergründe der Qualitätsentstehung und die qualitätsverändernden Einflussgrößen (insbesondere genetische Herkunft und Nachernteverfahren).

2.1 *Theobroma cacao* L. – Der Kakaobaum

2.1.1 Systematik und ursprüngliche Verbreitungsgebiete

Die Art *Theobroma cacao* L. gehört zur Familie der Malvaceae. Der Gattung *Theobroma* werden 22 Arten zugeordnet (CUATRECASAS 1964). Alle 22 Arten stammen ursprünglich aus

dem tropischen Mittel- und Südamerika, wo sie vorwiegend auf den überschwemmungsfreien Flächen der "Terra firme" oder in den teilweise überschwemmten Gebieten der "Várzea alta" vorkommen (DUCKE, 1953).

Das ursprüngliche Verbreitungsgebiet des Kakaobaumes liegt in Zentralamazonien (Abb. 1). Daneben wird ein zweites Vorkommen in Mittelamerika beschrieben. CUATRECASAS (1964) unterteilt die Art in die subsp. *sphaerocarpum*, den aus Zentralamazonien stammenden Forastero-Kakao, und die subsp. *cacao*, den aus Mittelamerika stammenden Criollo-Kakao.

Forastero-Kakao wird seiner Herkunft nach in zwei Untergruppen, die Upper Amazon Forasteros (UAF) und Lower Amazon Forasteros (LAF) getrennt. Nach BARTLEY (2005) ist es allerdings nicht möglich, eine geographische Trennlinie zwischen diesen Untergruppen zu ziehen. Er rät deshalb davon ab, hier von Untergruppen zu sprechen – insbesondere deshalb, so argumentiert BARTLEY, weil sich die Populationen der LAF mit hoher Wahrscheinlichkeit aus den ursprünglicheren UAF herausgebildet haben und über die Flussläufe in die Gebiete des LAF verbreitet wurden.

Criollo-Kakaos weisen eine sehr große morphologische Variabilität auf. Sie haben im Gegensatz zu den Forastero-Kakaos rosa-weiße Samen, sind im Allgemeinen weniger resistent gegenüber Krankheiten und Schädlingen und weniger produktiv als Forastero-Kakaos.

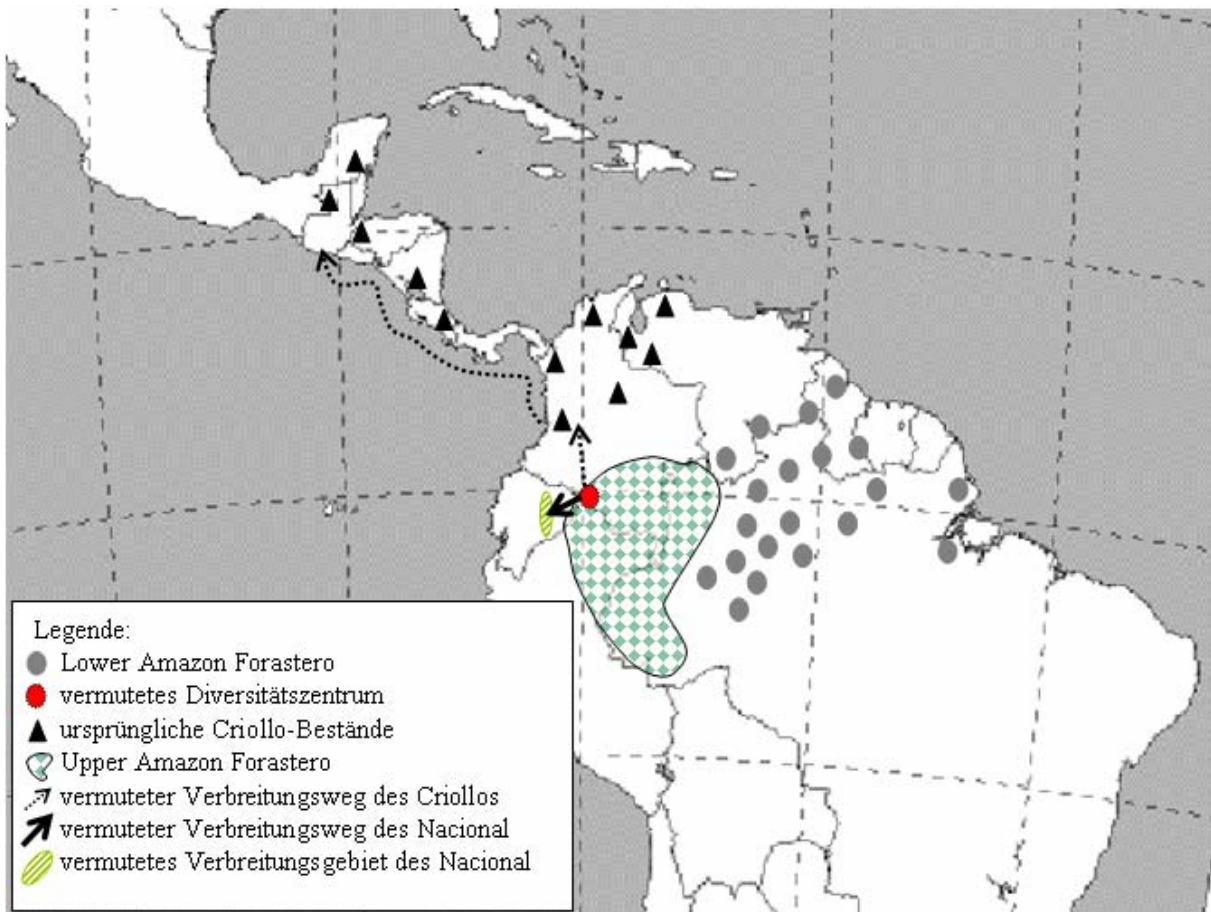


Abb. 1 Stark schematisierte Darstellung der ursprünglichen Verbreitung und präkolumbischen Verbreitungsgeschichte der morphogenetischen Gruppen von *T. cacao* (vereinfacht und verändert nach PARRA, 2000 und WOLTERS, 1999)

Sowohl die Annahme, es handele sich bei dem Vorkommen in Mittelamerika um ein ursprüngliches Verbreitungsgebiet, als auch die Einteilung der Art in zwei Unterarten werden zurzeit von mehreren Autoren bezweifelt (MOTAMAYOR *et al.*, 2000). Zum einen belegen neuere molekularbiologische Untersuchungen eine sehr enge Verwandtschaft aller ursprünglichen Criollos, was die Vermutung nahe legt, dass sie vor sehr langer Zeit aus einer kleinen Population entstanden sind (MOTAMAYOR *et al.*, 2000). Zum anderen wurde eine die gesamte Breite der Art abdeckenden Variabilität der Forastero-Kakaos, insbesondere der UAF, gefunden (LANAUD, 1987; LAURENT *et al.*, 1994a). Entsprechend wird das ursprüngliche Diversitätszentrum im oberen Amazonasgebietes vermutet und bei der Bezeichnung von Criollo- und Forastero-Kakaos von morphogenetischen Gruppen und nicht mehr von Unterarten gesprochen.

Nach neueren Erkenntnissen geht man inzwischen davon aus, dass der Criollo-Kakao entweder in präkolumbischer Zeit von Menschen aus dem oberen Amazonasgebiet über alte Handelswege (u. a. über den Seeweg) über den Panama-Isthmus verbreitet wurde (WOLTERS, 1999) oder sich bereits früh in einem refugialen Zentrum (durch den Rückgang des Waldes im Pleistozän oder Holozän) aus einer kleinen Population entwickelt und sich von dort eigenständig verbreitet hat (LANAUD, 1987; LAURENT *et al.*, 1994b; N'GORAN *et al.*, 1994). Diese Theorie könnte die starke Krankheitsanfälligkeit und die geringeren Ernteerträge der Criollo-Kakaos zumindest teilweise durch die geringe genetische Variabilität und die daraus resultierenden beginnenden Inzuchteffekte erklären.

Innerhalb der Forastero-Großgruppe, insbesondere der UAF, gibt es viele kleinere Populationen und Vorkommen, die sich stark voneinander unterscheiden. So soll auch der so genannte Nacional-Kakao aus einer kleinen UAF-Population entstanden und schon früh über die Anden in sein jetziges Verbreitungsgebiet nach Ecuador gelangt sein (WOLTERS, 1999). Nacional-Kakao wird in die Großgruppe der Criollos eingeordnet und zeichnet sich, wie andere Criollo-Kakaos auch, durch besondere fruchtige und blumige Noten aus, die zum Teil auf hohe Linaloolgehalte zurückzuführen sind (ZIEGLEDER, 1990).

Als eine dritte Großgruppe wird der Trinitario-Kakao genannt, der in Trinidad ab dem 18. Jahrhundert als ein natürliches Kreuzungsprodukt zwischen Criollo-Restbeständen und neu eingebürgerten Forastero-Kakaos aus dem östlichen Venezuela entstanden sein soll (CHEESMAN, 1944) (Abb. 4).

Heute sind durch Kreuzung über 1000 verschiedene Genotypen entstanden. Von diesen werden hauptsächlich Forastero-Kakaos und Trinitario-Kreuzungen in über 60 Ländern der feuchten Tropen zwischen den 20. Breitengraden Nord und Süd angebaut. Criollo- und Trinitario-Kakaos, die vorwiegend Criollo-Eigenschaften aufweisen, werden ihrer besonderen Eigenschaften wegen als Edelkakaos, LAF und Kreuzungen aus diesen, als Konsumkakaos

bezeichnet. Nähere Informationen zur postkolumbischen Verbreitung sind im Kapitel 2.2.1 dargestellt.

2.1.2 Biologie

Der Kakaobaum ist ein Schattenbaum der feuchten Tropen und weist ein sympodial pseudo-apikales Wachstum auf (CUATRACASAS, 1964). Nach der Keimung wächst zunächst ein orthotroph wachsender Hauptstamm auf eine Höhe von 1-2 m an. Nach 1-2 Jahren hört das apikale Meristem auf zu wachsen, und 3-5 plagiotrop wachsende Seitenäste bilden sich unter dem Apikalmeristem (Abb. 5). Diese Formation von Seitenästen wird „Jorquette“ genannt, die einzelnen Seitenäste „Fan-branches“. Direkt unterhalb der Jorquette bildet sich nach kurzer Zeit eine neue Knospe und setzt das apikale Wachstum fort. Dieser orthotrophe Spross wird „Chupon“ genannt. Nach einiger Zeit stoppt auch sein Wachstum, und es bildet sich wieder eine Jorquette usw. Auf diese Art kann der Kakaobaum eine Höhe von 8-20 m erreichen und bis zu 100 Jahre alt werden. In Kultur wird die Wuchshöhe niedriger gehalten (auf 4-8 m), um leichter ernten zu können (Abb. 5).

Auch die Blätter weisen ein dimorphes Wachstum auf. An den „Chupons“ wachsen sie in 3/8-Stellung. Sie sind symmetrisch und haben lange Blattstiele mit einer Schwellung (Pulvinus), die dem Blatt eine Ausrichtung nach dem Licht erlaubt. Die Blätter der „Fan-branches“ haben hingegen kürzere Blattstiele, ein leicht asymmetrisches Wachstum und sind zweizeilig in der Horizontalebene angeordnet (FRANKE, 1964). Die Blätter wachsen in Schüben, die über die Umgebungs-Einflüsse (Wasser) und den Nahrungszustand der Pflanze geregelt werden. In den ersten Tagen sind sie noch weich und rötlich-braun (bei Forastero-Kakaos) oder grünlich-weiß (bei Criollo-Kakaos) gefärbt (Abb. 5).

Mit vier bis fünf Jahren beginnt der Baum zu blühen und zu fruchten. Pro Jahr kann er 35.000 bis 116.000 Blüten hervorbringen (LACHENAUD & MOSSU, 1985). Diese entstehen am Stamm (Cauliflorie), seltener an Ästen (Ramiflorie), aus dem meristematischen Gewebe von mindestens zwei bis drei Jahre alten Blattachsen (Abb. 4). Nach 30 bis 35 Tagen Entwicklung blühen sie auf. Die Sepalen öffnen sich während der Nacht. Am Morgen entlassen die Antheren ihren Pollen. Wird die Blüte an diesem Tag nicht befruchtet, fällt sie am Folgetag ab (LOPEZ & DIMIK, 1991). Von den Blüten werden nur ca. 1-5% durch *Forcypomyia*, stachellose Bienen oder ähnlich kleine Insekten befruchtet (ESKES *et al.* 2001; FRANKE & PFEIFER, 1964; WOOD & LASS, 1989).

Aus dem oberen Amazonasgebiet (Upper Amazon) stammende Genotypen sind selbststeril, können sich aber gegenseitig befruchten. Im Gegensatz dazu können die selbststerilen Trinitarios häufig nur durch selbstfruchtbare Genotypen bestäubt werden, nicht aber durch selbststerile Genotypen (WOOD AND LASS, 1989). Zu selbstfruchtbaren Genotypen werden viele der Großgruppe der Forasteros zugeordnete Genotypen des unteren Amazonas (LAF),

Criollos (aus Mittelamerika), aber auch einige Trinitarios gezählt (ESKES *et al.*, 2001). Die Inkompatibilität rührt nicht daher, dass Stempel oder Griffel das Pollenschlauchwachstum verhindern, wie es bei vielen anderen Pflanzen der Fall ist, sondern daher, dass der männliche Gamet nicht mit der weiblichen Eizelle fusioniert (COPE, 1962).

Aus dem oberständigen, aus fünf Karpellen bestehenden Fruchtknoten bildet sich nach Befruchtung eine ledrige Trockenbeere, deren Farb- und Formgebung stark variiert (Abb. 4). Je nach Genotyp ist die 10-30 cm lange und 5-12 cm breite reife Frucht rot, grün oder gelblich-orange und weist eine glatte, warzige oder geriefte Oberfläche auf. Die Form variiert von rundlich bis länglich-oval (Abb. 4). Das Exokarp ist hart bis ledrig, das Mesokarp meist weich. Eingebettet in ein essbares, fleischiges Endokarp befinden sich im Innern der Frucht 6-50 Samen, die in 5 Placentationsreihen angeordnet sind (Abb. 6). Die flachen bis länglich-ovalen (Forastero-Kakaos) oder rundlichen bis länglich-ovalen Samen (Criollo-Kakaos) sind von einer Testa umgeben, die fest mit dem Endokarp verwachsen ist (MÜLLER, 2000; MÜLLER *et al.* 1998). Das aus dem Endokarp bestehende Fruchtfleisch (auch Pulpa genannt) ist weiß-gelblich und enthält 10-13% Zucker, 1% Pektine und 1-2% Zitronensäure (FIGUEIRA *et al.*, 1993). Nach MOTAMAYOR *et al.* (2000) enthält die Pulpa von Criollo-Kakaos mehr Zucker als jene von Forastero-Kakaos.

Die Fruchtreife kann nach TIMBIE *et al.* (1978) in verschiedene Phasen eingeteilt werden. Zunächst wachsen nur die maternalen Teile der Frucht und das Endosperm. Die Zygote teilt sich erst 40-50 Tage nach der Befruchtung das erste Mal und wird zum Embryo (BOUHARMONT, 1960). Circa 90 Tage nach der Befruchtung, wenn das Fruchtwachstum schon fast abgeschlossen ist, beginnt der gerade 2 mm große Embryo stärker zu wachsen (CHEESMAN, 1927; PATEL *et al.*, 1994). Bis dahin sind die Embryos klein und von einem durchsichtigen, gelförmigen Endosperm umgeben. In den letzten Wochen der Fruchtreife verändert sich die Farbe der Frucht und die Pulpa akkumuliert Zucker und Säuren (Abb. 6, D). Außerdem nimmt der Pektingehalt der Fruchtpulpa ab (HUMPHRIES, 1943). Erst in dieser letzten Reifephase werden die Speicherproteine eingelagert, Proteasen akkumuliert (BIEHL *et al.*, 1982; VOIGT *et al.*, 1995) und die Transformation der freien Fettsäuren zu Triglyceriden wird abgeschlossen (GRIFFITHS & HARWOOD, 1991) (Abb. 7). Auch Theobromin wird erst in den letzten Wochen der Fruchtreife akkumuliert, Coffein ist nur am Ende der Samenreifung detektierbar (BUCHELI *et al.*, 2001). Ebenso ändert sich die Konzentration der phenolischen Substanzen in den letzten Wochen der Samenreife drastisch (WRIGHT *et al.*, 1982).

Die Dauer von der Befruchtung bis zur Fruchtreife beträgt insgesamt ca. 140-170 Tage (ALVIM, 1977).

Die reifen Samen sind 20-40 mm lang und 12-20 mm dick, wiegen 0,9-1,6 g und keimen epigäisch (Abb. 5). Die mehr oder minder stark gefalteten Kotyledonen machen einen Massenanteil von fast 90% aus und dienen als Speicherorgane (Abb. 7). Der Anteil der Testa

liegt bei ca. 10% und der Radikula-Anteil bei weniger als 1%. Das Endosperm ist nur noch in Spuren vorhanden.

In den Mesophyllzellen der Kotyledonen sind die Speicherfette in vielen 1-3 µm großen, rundlichen Oleosomen lokalisiert. Auch Proteinspeichervakuolen, in denen die Speicherproteine und vermutlich auch die Proteasen lokalisiert sind, befinden sich in den Mesophyllzellen (BIEHL, 1973). Im Mesophyll der Kotyledonen sind außerdem Idioblasten ausgebildet, deren jeweilige Zentralvakuole mit phenolischen Substanzen gefüllt ist (Abb. 8). Die Idioblasten tragen mit 8% zur Masse der Kotyledonen bei (LENCI, 2002) und sind teils diffus im Gewebe verteilt, teils in Reihen angeordnet. Die genaue Verteilung der Idioblasten wurde bislang noch nicht untersucht. Es ist auch nicht bekannt, ob es genotypspezifische Unterschiede diesbezüglich oder in der Anzahl der Idioblasten gibt. Eventuell liegen hier jedoch die Unterschiede zwischen stark bitteren und adstringierend schmeckenden Genotypen und solchen, die so wenig von diesen Eigenschaften besitzen, dass sie sogar roh gegessen werden können. Bei solchen Genotypen soll es sich um echte Criollo-Kakaos handeln.

Im Mittel enthalten Kakaosamen in der Trockenmasse 40-60% Fett, 10-15% Protein und 6% Stärke, zwischen 0,9 und 3,3% Theobromin sowie ca. 0,2% Coffein (bei Criollo-Kakao auch bis zu 1,3%) (FRANKE 1997; HAMMERSTONE *et al.*, 1994).

Nur 0,5-0,8% der bestäubten Blüten gedeihen zu reifen Früchten, denn insbesondere innerhalb der ersten drei Reifemomente stellen viele Früchte ihr Wachstum ein und sterben ab (FRANKE & PFEIFER, 1964). Allerdings fallen diese nicht durch Abzission ab, sondern verbleiben am Baum und vertrocknen dort. Dieses Phänomen ist bekannt als „cherelle wilt“ (cherelle = junge Frucht, wilt = Welke) (Abb. 4).

Der Kakaobaum blüht und fruchtet das ganze Jahr über. Dabei weisen Genotypen unterschiedlich lange Hauptblühphasen auf. Diese sind teils durch den Genotyp und durch ausgeprägte Trocken- und Regenzeiten in den diversen Anbaugebieten bedingt. Das führt zu verschiedenen Haupt- und Nebenerntezeiten.

Unterschiedliche klimatische Verhältnisse während der Fruchtreife wirken sich auch auf den Zuckergehalt der Pulpa und die Pulpamenge aus (WOOD & LASS, 1989).

Auch ausgereift bleibt die Frucht am Baum hängen und fällt nicht ab. Reife Früchte können daher nur anhand der Farbe von unreifen Früchten unterschieden werden.

Die Pulpa enthält nach HOLDEN (1959) einen Keimungsinhibitor, der die Keimung innerhalb der Frucht verhindert. Wird die Frucht jedoch beschädigt oder geöffnet, beginnen die Samen ohne Keimruhe zu keimen (recalcitrante Samen). Unbeschädigte Früchte können jedoch 3-4 Wochen gelagert werden, ohne dass die Samen ihre Lebens- oder Keimfähigkeit verlieren.

In natürlicher Umgebung werden die Samen durch Affen, Eichhörnchen oder andere Nagetiere verbreitet. Die Tiere fressen das zuckrige Fruchtfleisch, aber nicht die bitteren Samen.

2.1.3 Anbau, Vermehrung und Ernte

Kakaobäume für die Produktion von Rohkakao werden in Monokultur, unter Schattenbäumen oder in Mischkultursystemen mit anderen Nutzpflanzen wie Banane (*Musa spec.*), Papaya (*Carica papaya* L.) und Kokos (*Cocos nucifera* L.) angepflanzt (Abb. 5). In Monokulturen werden Pflanzdichten von bis zu 10.000 Bäumen pro Hektar erreicht. Dies ist aber eher eine Ausnahme: Der Mittelwert für Kulturen von Kakao und Schattenbäumen, wie z.B. Erythrina-Arten in Trinidad, dürfte bei ca. 1.000-2.000 Bäumen pro Hektar liegen, in Mischkulturen entsprechend weniger (DAND, 1993).

Meistens werden die Bäume aus Samen gezogen, da die Bewurzelung von Stecklingen häufig Probleme verursacht. Eine weitere Schwierigkeit der Stecklingsvermehrung liegt in der dimorphen Wuchsform des Kakaobaumes. Stecklinge aus orthotroph wachsenden Chupons ergeben eine andere Wuchsform als Stecklinge aus „Fan-branches“, die keinen Hauptstamm und keine Hauptwurzel ausbilden und buschig verzweigt wachsen.

Auf diese Art und Weise vermehrte Pflanzen werden als Klone bezeichnet, da sie ihren Ursprung in einer Pflanze haben. Dieser Begriff wird in der Kakaobranche fälschlicherweise häufig synonym für Populationen verwendet.

Neben der Stecklingsvermehrung werden immer häufiger auch alte Kakaobäume veredelt. Gerade in Ländern, in denen durch Pilze, Viren oder Insekten verursachte Ernteeinbußen auftraten, wurde kurzfristig auf die vegetativen Vermehrungsformen von resistenten Pflanzen gesetzt, besteht doch bei der generativen Vermehrung immer eine Unsicherheit bezüglich des späteren Leistungsvermögens der Bäume (schließlich zeigt sich die Resistenz gegen fruchtschädigende Schaderreger beim Kakaobaum erst mit Beginn der Adultphase nach 4-7 Jahren). Vorreiter in der Entwicklung und Umsetzung solcher Methoden war neben der „Cocoa Research Unit“ (CRU) in Trinidad die „Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira“ (CEPLAC) in Brasilien. Durch den Ende der 1980er Jahre in Bahia auftretenden Schadpilz *Crinipellis pernicioso* (Hexenbesenkrankheit) sank die Produktion des damaligen drittgrößten Rohkakaoproduzenten auf ein Drittel (BENNET, 2003). In der Folgezeit wurden durch die CEPLAC resistentere Pflanzen durch Stecklinge und Pfropfverfahren vermehrt aber auch neue Hybridsorten gezüchtet.

Die Größe der Plantagen, der Pflegeaufwand, die Verwendung von Düngern und Pflanzenschutzmitteln können sich je nach Anbaugebiet erheblich unterscheiden.

Daher variieren auch die Erträge sehr stark. Sie reichen von 200 kg ha⁻¹ in Subsistenzwirtschaftsanbau bis über 3.000 kg ha⁻¹ in großen Hochleistungsfarmen (DAND, 1993). Solche hohen Erträge lassen sich allerdings nur mit speziell auf Ertrag selektierten Genotypen und

erheblichem Einsatz von Dünge- und Pflanzenschutzmitteln erwirtschaften. Diese Art Plantagenwirtschaft ist teuer, bedarf des nötigen Know-hows und lohnt sich häufig nur für sehr große Plantagen, wie sie z.B. in Brasilien, Indonesien, Ecuador und auf Trinidad vorkommen. Über 70% des Rohkakaos stammt aber nicht von Hochleistungsplantagen, sondern aus kleinen bis mittleren Plantagen von 1-10 ha Größe mit meist geringen Erträgen zwischen 200-500 kg ha⁻¹ (DAND, 1993; ESKES & LANAUD, 2001). Je nach verwendetem Genotyp, Plantagenform, Schnittmanagement und Bodentauglichkeit liefert eine Plantage die besten Erträge zwischen dem 5. und 12. Jahr. Viele Plantagen werden 50 Jahre und länger bewirtschaftet, z.B. sind über 40% der Pflanzungen in der Elfenbeinküste älter als 25 Jahre (POKOU, 2006).

Für die Produktion von Rohkakao werden die reifen Früchte vorsichtig mit speziellen Erntestöcken vom Baum geschlagen und geöffnet. Die Samen mit anhaftender Pulpa durchlaufen dann die Nachernteprozesse Fermentation und Trocknung. In einigen Anbaugebieten wie z. B. Malaysia wurde aufgrund erhöhter Säurebildung während der Fermentation mit dem Lagern der Früchte und dem so genannten „bean spreading“ experimentiert. Dabei wird das Verhältnis von Fruchtpulpavolumen zum Samen verringert, was sich in geringerer Essigsäureproduktion bei der Fermentation auswirkt (MEYER *et al.*, 1989; BIEHL & MEYER, 1990). Bei unsachgemäßer Lagerung besteht jedoch die Gefahr, dass sich Schadpilze ausbreiten, Früchte (und Samen) nicht mehr den optimalen Reifegrad besitzen und zu keimen beginnen. Gekeimte Samen werden jedoch schneller von Insekten befallen. Ein erhöhter Anteil solcher Samen gilt daher als qualitätsmindernd.

In gut geführten großen Plantagen wird während der Erntezeit alle 7 Tage geerntet. In kleineren Plantagen oder auf Farmen, die Kakao nur in geringen Mengen anbauen, verlängert sich dieser Zeitraum häufig auf 14-21 Tage, um ausreichend Früchte für den Fermentationsprozess zu erhalten (Dominikanische Republik, Malaysia, Elfenbeinküste, Sulawesi). Dies führt häufig dazu, dass Früchte unterschiedlichen Reifegrades geerntet werden. Aufgrund der Unterschiede in der stofflichen Zusammensetzung der Pulpa und Samen (die Pulpa unreifer Früchte enthält weniger Zucker, die von überreifen Früchten zuwenig Wasser) kann das einen negativen Einfluss auf den Fermentationsablauf und damit auf die Qualität des Rohkakaos haben (Abb. 6). Der richtige Erntezeitpunkt ist also von zentraler Bedeutung für den Verlauf und das Ergebnis der Fermentation.

2.1.4 Verwendung

Nach DILLINGER (2000) wurden und werden bis heute fast alle Teile des Kakaobaums für medizinische, kultische oder nutritive Zwecke genutzt: Blätter, Blüten, Rinde, Pulpa und Samen. Wirtschaftlich von Bedeutung sind dabei die Nutzung der Pulpa, aus der insbesondere in Brasilien Süßigkeiten, Getränke und Fruchtmus hergestellt werden (FIGUEIRA *et al.*, 1993) und selbstverständlich die Nutzung der Samen. In fermentierter, getrockneter Form liefern sie

den biologischen Rohstoff für die Herstellung von Kakaoprodukten wie Kakaomasse, Kakao-pulver und Kakaobutter.

Die Nutzung von Criollo-Kakao durch den Menschen ist durch Funde von Kakaoschalen seit 600 v. Chr. belegt (HURST *et al.*, 2002). Dabei geht WOLTERS (1999) davon aus, dass Criollo-Kakao in Mesoamerika auf einen hohen Coffeingehalt (weniger bitter, stärker anregend) hin gezüchtet wurde. Forastero-Kakaos sollen dagegen nicht angebaut, sondern hauptsächlich als Medizinalpflanze oder wegen der süßen Pulpa genutzt worden sein (PATIÑO, 1963-1974).

2.2 Qualität und Heterogenität von Rohkakao

2.2.1 Verbreitungsgeschichte und Heterogenität der Genotypen

Viele Eigenschaften des fermentierten, getrockneten Rohkakaos erklären sich durch den verwendeten Genotyp. Die Populationen der Forastero- und Criollo-Kakaos unterscheiden sich zum Teil stark voneinander. Ein Grund hierfür sind die zum Teil erheblichen umweltbedingten Unterschiede während der Herausbildung der unterschiedlichen Populationen. Bei Criollo-Kakao wird außerdem vermutet, dass bestimmte Eigenschaften bereits in präkolumbischer Zeit durch Züchtung beeinflusst wurden. Auf einige dieser Unterschiede, wie zum Beispiel die Samenfarbe und -form, den Coffeingehalt und die Resistenz gegenüber Krankheiten und Schädlingen, wurde bereits hingewiesen (Kapitel 2.1.1).

PAULIN *et al.* (1995) schätzen, dass heute über 70% der angebauten Genotypen aus „fixed local varieties“ oder „landraces“ bestehen, nur etwa 25% sind selektierte Hybriden, und 5% bestehen aus klonalem Material. Woher aber stammen diese „landraces“, und aus welchen der morphogenetischen Großgruppen sind sie entstanden?

Zur Beantwortung dieser Frage soll zunächst kurz dargestellt werden, welchen Weg die verschiedenen Nachkommen der beiden morphogenetischen Großgruppen gegangen sind.

Leider sind Informationen über die Herkunft des verbreiteten Materials häufig nicht mehr erhalten geblieben, weshalb sich viele Aussagen in der Literatur zur Verbreitung des Kakaobaumes widersprechen. Die hier beschriebenen Verbreitungswege und zugehörigen Informationen basieren hauptsächlich auf den ausführlichen Studien von BARTLEY (2005) und PARRA (2000).

Bis ins 15. Jahrhundert war die Verbreitung des Kakaobaumes auf Mittelamerika und Südamerika begrenzt (Abb. 1, Abb. 2). Nachdem Cortez als erster Europäer den Kakao gesehen und vermutlich auch gekostet hatte, dauerte es noch fast 100 Jahre, bis der europäische Adel auf den Schokoladen-Geschmack gekommen war. Danach aber stieg die Nachfrage derart, dass die europäischen Länder begannen, den Kakaobaum in ihren Kolonien zu verbreiten (Abb. 2, Abb. 3). Da die Vorkommen des Amazonasgebietes anfänglich noch nicht bekannt waren, wurden zunächst die vorhandenen Criollo-Kakaokulturen Mittelamerikas (Mexiko,

Venezuela) ausgebaut und der Anbau auf die vorgelagerten Karibischen Inseln ausgeweitet (u. a. von Venezuela nach Trinidad).

Um 1664 wurden die ersten Lower Amazon Forasteros (LAF) auf Martinique angebaut und von dort nach Hispaniola gebracht (Abb. 2).

Etwas später, um 1670, wurde das erste Mal mexikanischer Criollo-Kakao auf die Philippinischen Inseln verschifft (Abb. 3). Von dort aus wurde der Criollo-Kakao in den folgenden 200 Jahren vermutlich über die Insel Amba nach Java, Sri Lanka, Mauritius und La Réunion bis nach Madagaskar verbreitet. Auf Sansibar (heute zu Tansania gehörend) soll 1891 aus Madagaskar stammender Criollo-Kakao angepflanzt worden sein. Andere Schiffs-Routen brachten den Criollo-Kakao von den Philippinischen Inseln nach Indien, West-Samoa und Teilen Papua-Neuguineas.

Im Jahre 1727 wurden nahezu alle Kakao-Bestände der Anbaugelände der Kleinen Antillen (Martinique, Dominika, Hispaniola und besonders Trinidad) vermutlich durch Krankheit zerstört (in der Literatur als „blast“ beschrieben), wobei Criollo-Kakao stärker betroffen war als LAF-Kakao. Um die Kakaobäume auf Trinidad zu ersetzen, begann man, LAF-Kakaos in die alten Plantagen zwischen noch verbliebene Criollo-Bäume zu pflanzen. Die daraus resultierende Kreuzung ist allgemein als Trinitario bekannt. In der Folgezeit wurde vermutlich noch häufiger Material aus Venezuela nach Trinidad eingeführt (Abb. 2).

Wie in Abb. 2 dargestellt, gab es ab dem 18. Jahrhundert zahlreiche weitere Kakao-Verbreitungswege. Über die Verbreitung von ecuadorianischem Nacional-Kakao nach Panama, Costa Rica und Guatemala und den Transport von venezolanischem Kakao nach Ecuador kam es zu einer Vermischung der verschiedenen Criollo-Kakaos. Auch Trinitarios aus Trinidad, die sich gegenüber den Criollo-Kakaos durch höhere Erträge und bessere Resistenzen auszeichneten, wurden in ehemals reine, ursprüngliche Criollo-Gebiete eingeführt.

Heute sind nur noch wenige Standorte unverfälschter, oft auch als „ancient“ bezeichneter, Criollo-Kakaos der verschiedenen Populationen in abgelegenen und isolierten Plantagen zu finden. Man geht davon aus, dass sich im freien Handel keine echten ursprünglichen Criollos mehr befinden.

Die Genotypen des erst seit dem 18. Jahrhundert in küstennahen Anbaugeländen Bahias gepflanzten Kakaos stammten ursprünglich von LAF-Populationen ab (Abb. 2).

Die ersten Kakaobäume, die in Afrika (in Príncipe und/oder evtl. auch São Tomé) gepflanzt wurden, stammen von diesen LAF-Populationen aus Bahia ab (Abb. 3). Von dort wurden sie über den Umweg der Insel Fernando Pó oder direkt nach Ghana, zur Elfenbeinküste oder nach Nigeria verschifft. Heute sind diese Genotypen unter dem Namen West African Amelonado (WAA) bekannt, in sich sehr homogen und noch immer weit in westafrikanischen Ländern verbreitet.

Die nächsten überlieferten Transporte, die ab 1880 nach São Tomé gingen, enthielten Material aus Trinidad, Ecuador und Venezuela (Criollo- und Trinitario-Kakaos).

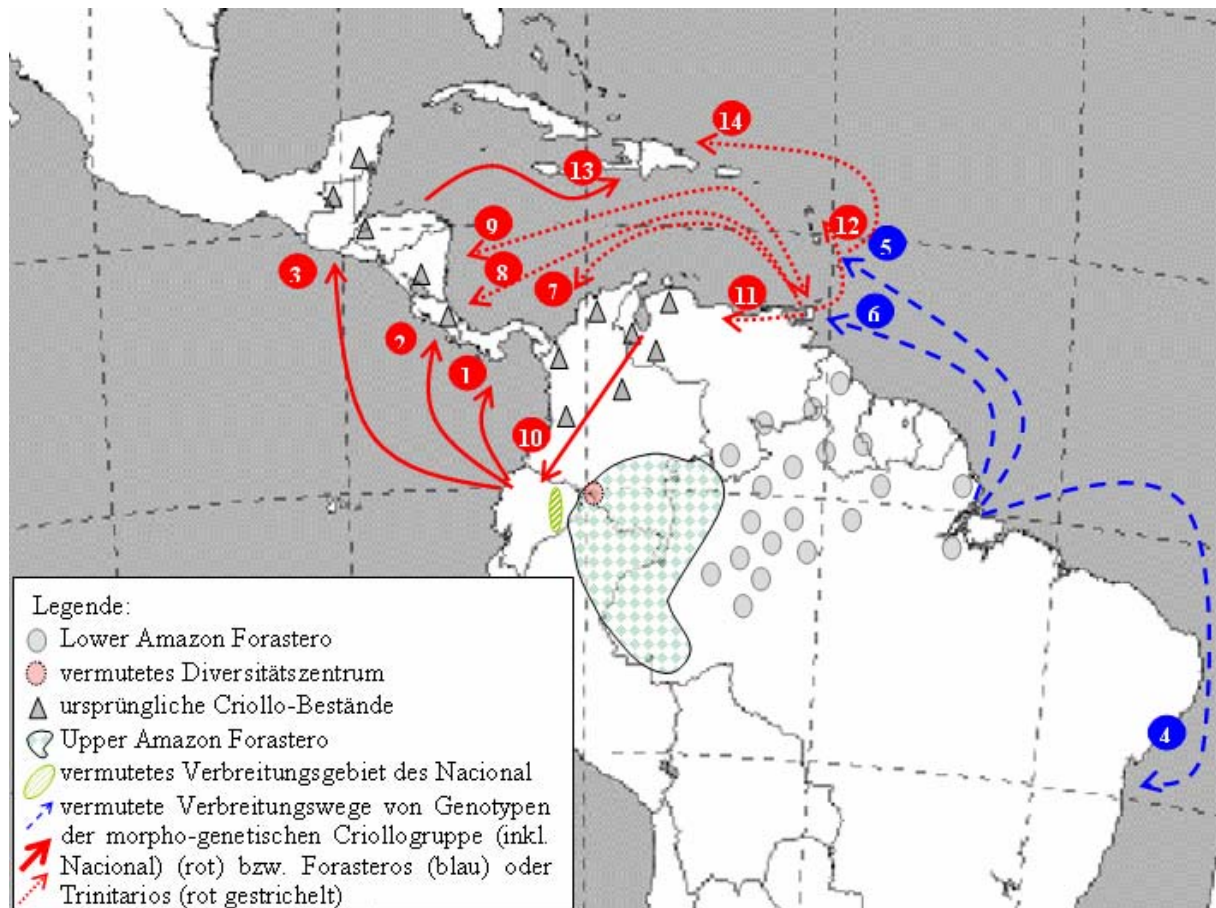


Abb. 2 Vermuteter Austausch bzw. Verbreitung unterschiedlicher Kakao-Genotypen in Meso- und Südamerika bis ins 19. Jahrhundert (vereinfacht und verändert nach PARRA, 2000 und BARTLEY, 2005)

1. und 2. Ecuador („Nacional“) nach Panama und Costa Rica (1830); 3. Ecuador nach Guatemala (1861), 4. LAF („Amelonado“) nach Bahia, Brasilien (18. und 19. Jahrh.), 5. LAF nach Martinique (1664), 6. LAF nach Trinidad (1757), 7. und 8. Trinidad (Trinitario-Kakaos) nach Kolumbien und Costa Rica (1898), 9. Trinidad nach Nicaragua und andersherum (1892-1893), 10. Venezuela nach Ecuador (1890), 11. Trinidad nach Venezuela (1831), 12. Trinidad nach Dominika (1846), 13. Mesoamerika nach Hispaniola (im Zuge der spanischen Kolonialherrschaft), 14. Martinique nach Hispaniola (während der französischen Kolonialherrschaft).

In Kamerun kamen die ersten gepflanzten Kakaobäume aus Trinidad (Trinitario-Kakao). Später wurde aber wohl auch WAA aus São Tomé und Fernando Pó eingeführt. Um 1900 wurden Pflanzen zumindest zum Teil wieder durch neuere Lieferungen aus Trinidad ersetzt. Da die Trinitarios resistenter und ertragreicher sind als die reinen Criollo-Kakaos, wurden sie neben dem reinen Criollo-Kakao später über England auch nach Sri Lanka, auf die Fidschis und vermutlich auch angrenzende Inseln geliefert (Abb. 3).

Die Verbreitung in die neuen Anbauländer erfolgte fast immer über den Seeweg, meist über Handelsrouten. Für den längeren Transport wurden junge Pflanzen transportiert: Kakaofrüchte oder Samen erwiesen sich als weniger geeignet. Daraus ergibt sich, dass die Anzahl der Pflanzen begrenzt war.

Die von PAULIN *et al.* benannten „landraces“ haben ihren Ursprung in der sukzessiven Verbreitung und Einführung bestimmter Genotypen und ihrer anschließenden Kreuzung. Dabei ist entscheidend, aus welchen Populationen das Ausgangsmaterial der einzelnen

Anbauländer stammte und ob es den in den neuen Anbaugebieten vorherrschenden Bedingungen standhalten konnte. Zu diesen gehörten auch lokal auftretende Krankheiten und Schädlinge der neuen Gebiete, die den Pflanzen zu schaffen machten. Im Verlauf der Zeit wurden aus der eingebürgerten Auswahl an Pflanzen die für die regionalen Bedingungen (Klima, Boden, Pathogene) geeigneten Genotypen selektiert: teils auf natürliche Art, teils nutzerdefiniert durch den Menschen. Bis in die 40er-Jahre bildeten sich auf der Grundlage des Eingangsmaterials diese regionspezifischen Genotyp-Mischungen heraus (Criollo-Kakao und Criollo-ähnliche Trinitarios in Venezuela, Mittelamerika inkl. Trinidad, Madagaskar, Papua-Neuguinea, Kamerun und Java; Nacional-Kakaos in Ecuador und LAF in Ghana, in die Elfenbeinküste und Nigeria). Diese Aufteilung findet sich auch heute im Annex C des Internationalen Kakaoabkommens wieder, in dem alle Länder, die Edelkakaos anbauen gelistet sind.

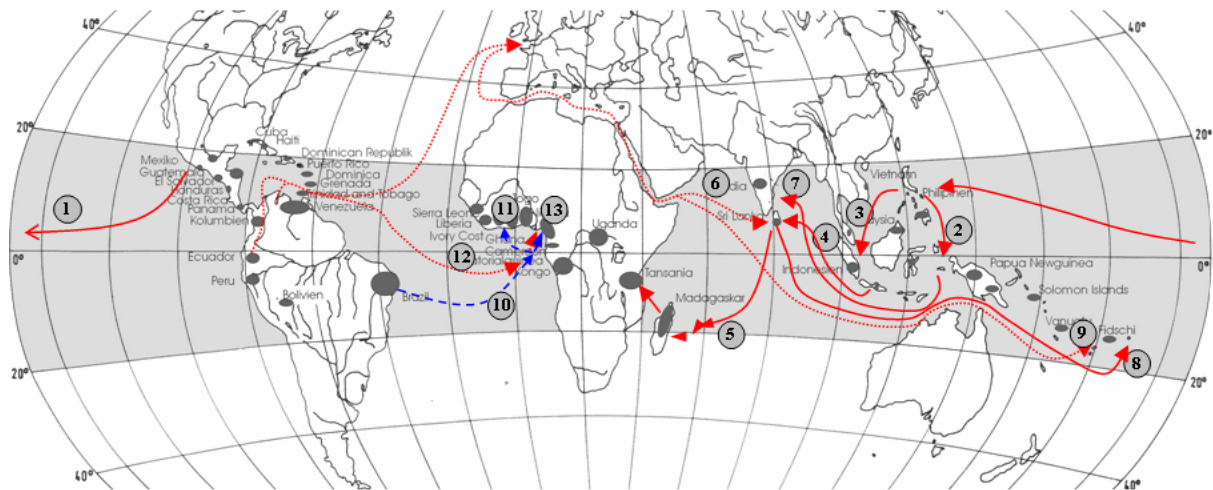


Abb. 3 Angenommene Verbreitungswege von *T. cacao* (stark verändert nach BARTLEY, 2005)
 1. Mexiko auf die Philippinen (1670), 2. Philippinen nach Ambon (1750-1778), 3. Philippinen nach Indonesien (Java), 4. Indonesien oder/und Philippinen nach Sri Lanka (Beginn 19. Jahrh.), 5. Sri Lanka nach Madagaskar über Mauritius und La Réunion, 6. Trinidad über England nach Sri Lanka (1880-1881), 7. Ambon nach Indien, 8. Sri Lanka nach Samoa (1883), 9. Trinidad über England zu den Fidschi-Inseln, 10. LAF (Bahia) über Príncipe nach São Tomé (1822-1855), 11. São Tomé über Fernando Pó nach Ghana (1850), 12. Ecuador, Trinidad und Venezuela nach São Tomé (1880), 13. São Tomé und Fernando Pó nach Kamerun, 14. Rote Pfeile Criollo-Kakao (durchgezogene Linie) oder Trinitario-Kakao (gestrichelte Linie), blaue Pfeile (gestrichelte Linie)LAF-Kakaos.

Durch das Aufkommen von Krankheiten, sinkende Erträge und steigende Nachfrage führte man ab den 40er-Jahren Upper Amazon Forasteros (UAF) nach Ghana, Nigeria und Elfenbeinküste ein. Seitdem stieg der Anteil an UAF-Kreuzungen z.B. in Ghana von 1940 5% (der Rest waren LAF-Amelonados) auf jetzt ca. 40% an (LOCKWOOD, 2006). Heute bestehen die weltweiten Pflanzungen zu ca. 70% aus einer Mischung aus Trinitario- oder neuen Criollo-Kakaos (Marcano *et al.*, 2006), wobei das Material in der Regel aus Samen gezogen wurde und entsprechend heterogen ist. Auf bestimmte Kriterien selektierte Hybride machen nach ESKES (2004) nur einen Anteil von 30% der gepflanzten Kakaobäume aus. Beide Zahlenwerte können aber, aufgrund der schlechten Datenlage, nur grobe Schätzungen darstellen.

Noch in den 60er-Jahren konnte ein eingewiesener Fachmann die im Hafen ankommenden Rohkakaopartien anhand von Geruch, Farbe, Bohnen- bzw. Samenform und -größe dem jeweiligen Anbauland zuordnen. Dies war möglich, da es damals durch den Anbau bestimmter Kakaogenotypen („landraces“) in Verbindung mit landesspezifischen, teils traditionellen Fermentationsweisen distinkte Unterschiede zwischen den Rohkakaos der einzelnen Anbauländer gab (KAKAOBOHNENPRÜFUNG, 1961, 1951).

Seitdem haben sich der Rohkakaomarkt und damit einhergehend auch die qualitativen Eigenschaften des Rohkakaos stark verändert. Die Gründe für diese Marktveränderungen sind vielfältig:

- Im Zuge der hohen Rohkakaopreise in den 70er-Jahren haben viele Länder in den Kakaoanbau investiert. Die Rohkakaoproduktion hat sich dadurch in den letzten 40 Jahren fast verdoppelt. Insbesondere Westafrika und Südostasien haben ihre Produktionsflächen vergrößert. Der Rohkakao dieser „neuen“ Anbaugebiete unterscheidet sich von den bis dato auf dem Markt gehandelten Rohkakaos durch die Auswahl unterschiedlicher Anbau-, Fermentations- und Trocknungsmethoden sowie durch den Einsatz anderer, teils neu selektierter Genotypen. Während viele dieser Länder den Anbau aufgrund des inzwischen gefallen Rohkakaopreises und gestiegener Arbeitslöhne wieder reduziert haben, steigen andere wie Vietnam und China neu in den Kakaoanbau ein und fördern ihn. Auch hier wird wieder eine neue Kombination aus Anbauort, Genotyp, Anbau-, Fermentations- und Trocknungsmethode vorliegen, entsprechend ist bislang unbekannt, von welcher Beschaffenheit dieser Rohkakao sein wird.
- Da das gebietsweise Auftreten von Schaderregern und Krankheiten (Hexenbesenkrankheit in Brasilien, „Black Pod“ und „Swollen Shoot“ in Westafrika, „Pod Borer“ in Indonesien und Malaysia), hohe Produktionsverluste verursachte, wurden als Gegenmaßnahmen vielfach alte, nicht resistente oder unproduktive Genotypen durch neuere Züchtungen ersetzt. Teilweise wurden sogar die Fermentations- und Trocknungsmethoden angepasst (Verkürzung der Fermentationszeit in Brasilien als Vorbeugemaßnahme gegen Pilzbefall).

Neueren Studien zufolge wird es in den nächsten zehn Jahren in westafrikanischen Ländern (v. a. Ghana, Elfenbeinküste und Nigeria) vermehrt zum Einsatz neuer, resistenter Genotypen kommen (LOCKWOOD, 2006, OPOKU *ET AL.*, 2006). Da schon jetzt über 45% (in manchen Gegenden > 70%) der Farmer älter als 45 Jahre sind, ist auch mit einem Generationswechsel in der Farmbewirtschaftung zu rechnen. Für die neue Farmergeneration ist jedoch der Kakaoanbau der alten unproduktiven Genotypen wenig attraktiv: ein Wechsel zu anderen Genotypen oder sogar zu andere Cash-Crops ist demnach wahrscheinlich. Zunehmend wird auch davon berichtet, dass sich der Kakaoanbau in einigen Gebieten (insbesondere in Westafrika)

aufgrund von Bodenmüdigkeit nicht mehr lohnt, so dass sich Kakaoanbaugebiete nach 30 Jahren Nutzung verlagern (ANON., 2005).

Nach LOCKWOOD (2006) sollen die neu eingesetzten Genotypen keine Qualitätsveränderungen im Vergleich zu den alten Genotypen aufweisen. In den letzten zehn Jahren hat sich die Qualität kaum verändert und deckt sich auch heute noch mit dem ehemals als Standard für Konsumkakao genutzten ghanaischen Rohkakao.

In Kombination mit dem Generationswechsel der Farmer und der Verlagerung der Anbaugebiete ist aber vermutlich zukünftig mit Veränderungen der Rohkakaqualität zu rechnen.

Eine andere weitreichende Veränderung des Rohkakaomarktes rührt von dem verstärkten Handel von Rohkakaomassen her, die bereits im Anbaugebiet produziert wurden. Eine Rückverfolgung zum verwendeten Rohkakao ist dadurch nur noch bedingt möglich. Eine Qualitätsbestimmung an diesem Material ist also nur noch anhand von Indikatorsubstanzen und über sensorische Tests möglich.

2.2.2 Nacherntebehandlung: Fermentation und Trocknung

2.2.2.1 Fermentation

Durch die Fermentation werden die leicht verderblichen, nahrhaften, aber roh ungenießbar bitter schmeckenden Kakaosamen in ein lager- und transportfähiges, aromareiches Lebensmittel verwandelt.

In der Fermentation lassen sich grundsätzlich eine anaerobe Gärungsphase (1. Phase) und eine nachfolgende aerobe Oxidationsphase (2. Phase) unterscheiden. In der Gärungsphase produzieren Hefen durch den Abbau von in der Pulpa enthaltenen Zuckern Ethanol und metabolisieren gleichzeitig die Zitronensäure der Pulpa. Zeitlich leicht versetzt entsteht durch die Aktivität von Milchsäurebakterien eine geringe Menge Milchsäure. Außerdem werden polymere Pulpabestandteile wie Pektine durch pflanzeigene und mikrobielle Enzymaktivitäten abgebaut (SANCHEZ *et al.*, 1984). Ohne die stabilisierenden polymeren Pulpabestandteile fließen die Pulpapreste ab und Sauerstoff dringt in die Fermentationsmasse ein (Abb. 9). In der aeroben Phase wird anschließend der Ethanol von Essigsäurebakterien zu Essigsäure oxidiert (SCHWAN *et al.*, 1995).

Die Samen durchlaufen zu Beginn der Fermentation eine keimungsähnliche Phase und lassen spezifische Veränderungen ihrer Inhaltsstoffe erkennen. Eine der markantesten Veränderungen dieser 1. Phase ist die einsetzende Proteolyse von Reserveproteinen. Ein gleichzeitig leicht erfassbarer Indikator ist die Entstehung von γ -Aminobuttersäure (GABA) durch die Decarboxylierung von Glutamin (STOLL, 2006; BYTOF *et al.*, 2004).

In der nachfolgenden oxidativen Phase werden die quellenden Samen durch eindringende Essigsäure und bis auf 55°C steigende Temperaturen abgetötet. Dies geht mit einer grundsätzlichen Veränderung der zellulären Struktur einher (BIEHL, 1973). Aus elektronenoptischen

Untersuchungen ist bekannt, dass die in Oleosomen gespeicherten Öle und Fette zu großen lipophilen Kompartimenten fusionieren, da die Membranen durch den Temperatur- und Essigsäure-Einfluss zerstört werden. Makroskopisch ist dieser Vorgang am getrockneten Rohkakao leicht durch eine Umfärbung der Kotyledonen von schiefbrig zu violett erkennbar. Dieser wird durch die Auflösung der Idioblasten verursacht, in denen die 15-20% phenolischen Substanzen des Kakaosamens gespeichert sind.

Dieser Vorgang wird außerdem erklärbar aus der Freisetzung der in Idioblasten gespeicherten Anthocyanidine. Bis zu welchem Grade die gleichzeitige Deglycosidierung dieser erfolgt ist, ist leider derzeit noch nicht bekannt.

Biochemisch verstärkt sich mit der Ansäuerung der Prozess des Reserveproteinabbaus. Die dafür verantwortlichen Proteasen haben aus In-vitro-Studien bekannte pH-Wert-Optima von pH 3,5 (Aspartylendoprotease) bzw. pH 5,8 (Carboxypeptidase) (VOIGT *et al.*, 1994; REISDORFF *et al.*, 2004).

Bedingt durch die Anreicherung der freien Aminosäuren und durch die Diffusion von Stoffen aus den Samen wird der pH-Wert wieder angehoben und oxidative Bräunungsprozesse, vorwiegend katalysiert durch die hochaktiven Polypenholoxidasen des Kakaosamens, führen zu polymeren Bräunungsprodukten. Im Zuge dieser Prozesse werden ca. 50% der in den Kakaosamen vorhandenen Polyphenole in unlösliche Verbindungen überführt (KIM & KEENY, 1984; FORSYTH, 1952).

Bei Verlängerung der Fermentation über die Phase dieser Verbräunung hinaus treten sekundäre Veränderungen auf, die durch endogene lytische Prozesse und vermutlich auch durch mikrobielle Prozesse verursacht werden. In ihrem Verlauf können Aromavorstufen entstehen, die im Zuge nachfolgender Röstung zu Fehleraromen führen können.

Wichtig für die Entstehung eines guten Kakaoaromas ist es, die Fermentationsdauer an das Erntegut anzupassen. Jedoch kann die Fermentationszeit für Kakao nicht standardisiert werden, da z. B. der Reifungszustand des Samens nicht immer der gleiche ist und dadurch die Zusammensetzung der Pulpa (Zuckergehalt, Pektingehalt, Zitronensäuregehalt, Pulpavolumen) variiert. Vor allem aber weil die Kakaogenotypen unterschiedlich lange Fermentationsphasen benötigen. Diese Unterschiede können auf mehreren Faktoren beruhen. So kann die Pulpa unterschiedlich zusammengesetzt sein und diese dadurch unterschiedlich leicht abgebaut werden. Vermutlich ist auch die Beschaffenheit der Samenschale (Testa) verantwortlich für die Stoffaustauschprozesse. Dies würde zumindest erklären, warum oder inwieweit maternale Fakten den Fermentationsverlauf beeinflussen können (ANDERSSON *et al.*, 2005; ROHSIUS *et al.*, 2006).

Es ist bekannt, dass einige Kakaogenotypen bereits nach sehr kurzen Fermentationszeiten (2-3 Tage, vornehmlich Criollo-Kakaos und Nacional-Genotypen) einen idealen Vorstufengehalt aufweisen, andere erst nach 6-7 Tagen (insbesondere Lower-Amazon-Forasteros).

Bislang noch vollkommen unerklärt ist das Phänomen, dass Criollo-Kakao (so genannter Fein-, Flavor- oder Edelkakao) oft schon nach 2 Tagen Fermentation ein besonders gutes Aroma liefert. Da nach 2 Tagen Fermentation die oxidative Phase beginnt und damit die

Ansäuerung der Samen, die wiederum die proteolytischen Prozesse fördert, kann vermutet werden, dass bereits die keimungsinduzierende Vorbehandlung bei Criollo-Kakaos zu einem beachtlichen Abbau von Reserveproteinen führt. Dieser Ansatz ist aber bislang rein hypothetisch.

Dass grundsätzlich ein biochemischer Unterschied zwischen den bereits in präkolumbischer Zeit angebauten Criollo-Kakaos und den Forastero-Kakaos (häufig auch als Massenkakaos bezeichnet) besteht, zeigt sich an der Tatsache, dass Criollo-Samen keine oder nur geringe Anteile an Anthocyanen akkumulieren (BARTLEY, 2005). Zudem besteht, wie bereits erwähnt, ein wesentlicher Unterschied zwischen Criollo- und Forastero-Kakaos im drei- bis vierfach höheren Coffeingehalt der Criollo-Samen (HAMMERSTONE *et al.*, 1994).

Zu den häufigsten Fermentationsmethoden zählen die Haufen-, Kasten- und Korbmethode. Vermutlich bereits sehr früh von verschiedenen mittelamerikanischen Kulturen (Olmeken, Maya, Azteken) angewendet, ist die Haufenfermentation die ursprüngliche Form. Dabei werden 100-2000 kg frisch aus den Früchten genommene Samen samt Pulpa (ohne Columella) auf ausgebreitete Bananenblätter gehäuft und von diesen zugedeckt. Nach 24-48 Stunden wird der Haufen durchmischt. Wie bei DAND (1999) beschrieben, wurden bei kleinen Mengen zur Stabilisierung Bretter o. Ä. an die äußeren Seiten gestellt und zur besseren Wärmedämmung auch auf den Haufen gelegt. Diese Form könnte damit bereits eine Übergangsform zur Kastenfermentation darstellen, bei der die Fermentationsmasse in 60 cm x 60 cm x 60 cm großen Holzkisten fermentiert wird (Abb. 6, D). Abgedeckt werden diese Kisten mit Bananenblättern und Jutesäcken (Abb. 6, I). Auch hier wird die Fermentationsmasse im Verlauf der Fermentation ein- bis dreimal durchmischt. Seltener wird die Fermentation in mit Bananenblättern ausgeschlagenen Körben (Westafrika) oder in Säcken (u. a. Dominikanische Republik) durchgeführt.

Wärmedämmung, Inokulation, Pulpa-Abfluss und Luftzufuhr unterscheiden sich je nach angewandter Methode z. T. erheblich. Vor allem bei der Kastenfermentation sind, bedingt durch große Fermentationsmassen und unzureichende Mischung, vielfach Inhomogenitäten im Fermentationsergebnis festzustellen. Die Haufenfermentation liefert hingegen homogeneres Material.

Die Haufenfermentation findet vorwiegend in westafrikanischen Ländern Verwendung, die Kastenfermentation in Brasilien, Trinidad, Ecuador, Malaysia, Papua-Neuguinea und Indonesien. In den letztgenannten Ländern führen kleine Farmen die Fermentation häufig nicht selbst durch, sondern liefern die Fermentationsware an spezielle als Fermentaries bezeichnete Fermentationshäuser.

In einigen Ländern und Regionen werden die Kakaosamen ohne Fermentation getrocknet. Bekannt dafür sind die Dominikanische Republik und Sulawesi.

2.2.2.2 Trocknung

Der auf die Fermentation folgende Schritt ist die Trocknung der Samen. Sie erfolgt in der Regel durch Sontentrocknung auf speziellen h6lzernen oder aus Beton gebauten Trockenb6den, 6ber die bei Regen D6cher geschoben werden (Brasilien, Trinidad; Abb. 9) oder auf ca. 1 m 6ber dem Boden gespannten Bastmatten (typisch f6r Westafrika). Kleinbauern trocknen geringe Mengen jedoch h6ufig auf Plastikplanen oder direkt auf dem Boden (teilweise auch auf asphaltierten Stra6en). Ungerne gesehen, aber in Regenperioden teilweise angewendet, wird die Trocknung durch 6fen oder Holzfeuer. Sofern nicht Obacht gegeben wird, werden die Samen dabei durch Rauch kontaminiert, was zu unerw6nschten „off-flavors“ f6hrt (FOWLER, 1995). Andererseits besteht bei ungen6gend oder zu langsam getrockneten Samen die Gefahr des Schimmelpilzbefalls, der zu unerw6nschten Fehlparomen und Mycotoxinbelastung f6hren kann (NEY, 1992).

Nur gro6e Plantagen oder Fermentaries k6nnen sich die Einrichtung von k6nstlichen Trockenb6den leisten, in denen nur erw6rmte Luft, nicht aber Rauch die Samen trocknet (Abb. 9).

Bei der Sontentrocknung werden normalerweise Temperaturen von < 50°C nicht 6berschritten, bei der k6nstlichen Trocknung (Ofen, Holz) teilweise Temperaturen 6ber 60°C erreicht. Diese Maximaltemperaturen der Samen sind insofern interessant, als sie direkt Einfluss auf die auch noch nach Jahren in den Samen vorhandenen Residualaktivit6ten der Samenenzyme haben (QUESNEL & JUGMOHUNSINGH, 1970).

Bei der Trocknung findet mit dem Entzug von Wasser auch eine Materialwanderung statt. Au6erdem kommt es zur Vermischung von wasserl6slichen Substanzen und zum Verlust von fl6chtigen Substanzen.

Im Gegensatz zu schnell und hei6 (bei ca. 60°C) getrockneten Rohkakaosamen (durch artifizielle Trocknung), die sich durch hohe S6uregehalte und schw6chere Aromapotentiale auszeichnen, ist der Restgehalt an Essigs6ure durch verl6ngerte, langsame Sontentrocknung deutlich herabgesetzt (JINAP *et al.*, 1994). Schon w6hrend der Trocknung kommt es dann in kleinen Mengen zur Aromavorbildung durch Amadori-Verbindungen (aus reduzierenden Zuckern und freien Aminos6uren), aus denen w6hrend des R6stvorganges durch Maillard-Reaktionen Aromastoffe gebildet werden (HEINZLER & EICHNER, 1991). Das Gros der Aromastoffe wird aber erst w6hrend der R6stung aus Aromavorstufen entwickelt.

Die Trocknung wird bis zu einem Wassergehalt zwischen 6% und 8% gef6hrt. Bei h6heren Wassergehalten besteht die Gefahr der Besiedelung des handelsfertigen Gutes mit Schadpilzen w6hrend des Transports und der Lagerung (STANTSCHW, 1976).

2.2.3 Transport und Lagerung von Rohkakao

Die Lagerhaltung im Produktionsland ist in der Regel kurz. In europ6ischen Lagern ist eine l6ngere Lagerhaltung von 6ber 20 Jahren als Folge der Bufferstock-Reserven vorgekommen. Sie soll dem Rohkakao im Allgemeinen nicht schaden. Allerdings ist davon auszugehen, dass

der Gehalt an flüchtigen Aromastoffen, die insbesondere in höherwertigeren Rohkakaos vorhanden sind, mit fortschreitender Lagerzeit abnimmt.

Bei der Lagerung von Rohkakao im tropischen Produktionsland, bei seinem Transport und auch bei der anschließenden Lagerhaltung in gemäßigten Breiten müssen Temperatur- und Feuchteschwankungen beachtet werden, da Rohkakaosamen sehr hygroskopisch sind und zu Schimmelbefall neigen (OYNIRAN, 1976).

Insbesondere der Seetransport ist wegen der Durchquerung von zwei Klimazonen und der daraus resultierenden Schweißwasserbildung kritisch. Rohkakao wird seit Beginn der 1990er-Jahre nicht mehr nur konventionell als Sackware verladen, sondern zunehmend auch in Containern und als Bulk- und Megabulkware (lose Verladung im Container). Bei allen Verladungsarten muss die ausreichende Belüftung gewährleistet sein, weshalb immer häufiger ventilerte Container eingesetzt werden, die die Gefahr von Nässeschäden vermindern.

Daneben besteht bei unsachgemäßer Lagerung die Gefahr der Infestierung durch Insekten und andere Fraßfeinde (Nagetiere, Milben). Bei Befall muss die Ware entsprechend sachgemäß mit Schutzmitteln behandelt werden.

Gelagert wird der Rohkakao in der Regel in Jute- oder Sisalsäcken, die durch ihre biologischen Eigenschaften (die Fasern nehmen Wasser auf) gut die Feuchtigkeit regulieren.

In wenigen Fällen kommt es zu Wertminderung des Kakaos, wenn die Säcke mit Mineralölen behandelt wurden oder damit in Kontakt gekommen sind (END, 2006).

Seit Beginn der 1990er Jahre wird Rohkakao auch zunehmend als Bulkware gelagert.

Rohkakao darf nicht in der Nähe von stark aromatischen anderen Lagergütern (Anon. 2007 nennt vor allem Koprakleie, Pfeffer und Palmenkerne) gelagert werden, da er dazu neigt solche Fehleraromen anzunehmen.

2.2.4 Heterogenität des jeweiligen Rohproduktes, Vermischung von Rohkakao

Eine Fermentationscharge umfasst ca. 100-2000 kg frische Kakaosamen. Getrocknet entspricht das, bei einer Ausbeuterate (recovery rate¹) von 40%, 40-800 kg Rohkakao (WINTGENS, 1992). Je nachdem welcher Genotyp fermentiert wurde, welchen Reifegrad die Frucht bei der Ernte aufwies und ob pod-storage betrieben wurde, kann die Ausbeuterate zwischen 35 und 45% liegen.

Entsprechend der verwendeten Methode und der Durchführung unterliegt das natürliche Produkt Schwankungen – auch innerhalb einer Fermentationscharge. Dies zeigt sich u. a. in der unterschiedlichen Anzahl unfermentierter, ungenügend fermentierter und ausreichend fermentierter Rohkakaosamen, deren Anteile stark schwanken können. Wie in Kapitel 2.2.2.1 dargestellt ergeben sich biochemische Unterschiede zwischen Rohkakaosamen, die unterschiedlich lange fermentiert wurden. Folglich ist die Kenntnis des Mischungsverhältnisses der Fermentationsstadien relevant.

¹ berechnet aus Gewicht fermentierter getrockneter Samen geteilt durch Gewicht der dafür benötigten Menge an frischen Kakaosamen mal 100 (WINTGENS, 1992)

In der Regel wird der Rohkakao über mehrere Zwischenhändler an den Transporteur weiterverkauft. Nur selten wird als Plantagen-Kakao bezeichneter Rohkakao ohne Zwischenhändler direkt an die Fabrikanten verkauft (u. a. bei FairTrade und bestimmten Edelkakaos aus Venezuela, Ecuador und Java).

Entsprechend einer allgemein gültigen BCCCA-Richtlinie dürfen Rohkakaopartien unterschiedlicher Qualität (Fermentationsgrad, Samengröße) nach der „Good manufacturing practice“ (GMP) nicht vermischt werden (BCCCA., 1996). Dennoch sind Vermischungen gängig, um auch minderwertige Ware verkaufen zu können. Vermischungen sind vor allem an der Verteilung der Samengröße zu erkennen: eine leicht schiefe Normalverteilung ist für eine ungemischte Probe charakteristisch, bimodale oder stark rechts bzw. links schiefe Verteilungen weisen auf vermischte Proben hin (FOWLER, 1995).

2.2.5 Parameter der Qualitätsbeurteilung

Bei der Qualitätsbeurteilung von Rohkakao können jeweils unterschiedliche Aspekte im Fokus stehen: die Reinheit der Ware, Zusammensetzung der Ware, die auf das Kakao-Fett bezogenen Charakteristika, die Beständigkeit und das Aromapotenzial (BCCCA., 1996). In der Tab. 1 sind die für die Qualitätsbeurteilung von Rohkakao üblicherweise verwendeten Prüfkriterien dargestellt.

Tab. 1 Qualitätscharakteristika von Rohkakao (zusammengefasst nach BCCCA., 1996)
Mit * gekennzeichnete Prüfkriterien unterliegen der neuen EU-Verordnung EU 396/2005

Reinheit	Zusammensetzung	Fettcharakteristika	Beständigkeit	Aromapotenzial
Kontamination mit - Pestiziden* - Bakterien* - Insekten, Schäd- tieren oder Tier- rückständen - Fremdbestandteilen - Schwermetallen* - mineralischen Ölen*	- Größe der Samen - Uniformität der Samen - Fettgehalt - Wassergehalt - Anteil an - Testa - „Flats“ - mit Insekten befallenen Samen - doppelten und gebrochenen Samen	- Anteil an freien Fettsäuren - Fetthärte	- gleichbleibende Qualität - keine Ver- mischung von Rohkakao unterschied- licher Qualität	- Herkunft des Kakaos (Edel- oder Konsum- Kakao) - Aromaintensität - „off-flavors“ (Schimmel, Muff) - saurer Geschmack - Bitternis und Adstringenz - Kontamination mit Fremd- aromen

Die Qualitäts-Beurteilung von Rohkakao wird in der Produktions- und Handelskette an unterschiedlichen Punkten durchgeführt:

- A) nach der Fermentation und Trocknung vor dem Verkauf der Ware,
- B) bei Weiterverkauf durch Zwischenhändler, Trader, Transporteure, Lagerhalter,
- C) abschließend vom Verarbeiter des Rohkakaos (Schokoladen- und Schokoladenwarenhersteller, Butterpresser und Kakaomassenhersteller).

In der Regel findet die erste Qualitätsprüfung in einfachster Form über den Schnitt-Test (Cut-Test) statt. Diese 1938 durch das Office International du Cacao et du Chocolat eingeführte Prüfmethode ist einfach, bedarf nur wenig Equipment und liefert erste Hinweise zur Rohkakaosqualität. Aus diesen Gründen wird sie auch heute noch von Händlern, Lagerhaltern und Verarbeitern durchgeführt.

Die Farbe der aufgeschnittenen Rohkakaosamen wird dabei ebenso erfasst wie der Anteil an gekeimten, schimmlichen oder durch Insektenfraß beschädigten Rohkakaosamen (letztere drei Gruppen werden oft zusammenfassend als „defekte“ Rohkakaosamen bezeichnet). Weiterhin werden das 100-Bohngengewicht, der Anteil an Fremdpartikeln und der Anteil an verklebten so genannten „doppelten“ Rohkakaobohnen bestimmt.

Entsprechend der verschiedenen Verträge - in englisch sprachigen Ländern in der Regel nach Richtlinien der „Cocoa Association of London“, kurz CAL; in französisch sprachigen nach denen der „Association Francaise du Commerce des Cacaos“, kurz AFCC - werden üblicherweise die in der Tab. 2 dargestellten unterschiedlichen Qualitäten und Grenzwerte unterschieden. Zusätzlich gibt es jedoch auch Ausnahmen oder Zusatzbemerkungen, die zwischen den Vertragspartnern festgelegt werden (DAND, 1993).

Tab. 2 Schnitt-Test: Grenzwerte nach CAL und AFCC

Abkürzungen: g. f. = good fermented, f. f. = fair fermented, faq = fair average quality, ICS = International Cocoa Standard, CAL = Cocoa Association of London, AFCC = Association Francaise du Commerce des Cacaos, USFDA = Standard der “United States Food and Drug Administration” insektenbef. = insektenbefallen. * Maximale Anzahl *schiefziger* oder insektenbefallener Samen

		Angaben in % (gemittelt aus der Schnittprüfung von 3 mal 100 Samen)					
		schimmlich	<i>schiefzig</i>	Σ insektenbef., gekeimt oder Flat	Σ insektenbef. oder schimmlich	Σ insektenbef. oder gebrochen	Σ schimmlich und insektenbef. oder gebrochen
ICS	Grad I	3	3	3			
	Grad II	4	8	6			
CAL + AFCC	g. f.*		5		5		
	f. f.*		10		10		
AFCC	faq		12		12		
USFDA		4				4	≤ 6

Üblicherweise wird auch der Wassergehalt der Rohkakaosamen bestimmt. Die Farbe der aufgeschnittenen Rohkakaosamen, d.h. der Anteil *schiefziger*, *violetter*, *hellbrechender* und *brauner* Samen, dient als Hinweis auf den Fermentationsgrad und oft auch als Indiz für die Herkunft der Kakaosamen. Dabei deuten hohe Anteile *schiefziger* und *violetter* Samen auf eine unzureichende Fermentation hin. Entsprechend den geltenden Kontrakten können Lieferungen, die die gesetzten Standards nicht erreichen abgelehnt und Preisnachlässe erzielt werden.

Abhängig von der späteren Verwendung des Rohkakaos erfolgen weitere Prüfungen.

Kakaobutterpresser prüfen neben der Farbe des Rohkakaos den Fettgehalt, die Fetthärte, den Gehalt an freien Fettsäuren (FFA) und den Schmelzpunkt des Fettes. Während der Fettgehalt, der zwischen 50% und 60% schwanken kann, hauptsächlich durch den Genotyp beeinflusst

wird, hängen die Fetthärte und der Schmelzpunkt des Fettes stärker von den klimatischen Verhältnissen in der letzten Fruchtreifeperiode ab. Hohe FFA-Gehalte wiederum werden durch die Fermentation von krankheits- oder schädlingsbefallenen Kakaosamen, verlängerte unsachgemäße Nachernteverfahren und/oder Schimmelbefall des Rohkakaos verursacht (FOLWER, 1996). Nach EU-Verordnung (ANON., 2005a) sind Werte über 1,75% nicht zulässig.

Die Farbe der Rohkakaosamen lässt sich über entsprechende Verarbeitungsverfahren beeinflussen. Dennoch ist es einfacher (gegebenenfalls auch günstiger) Rohmaterialien zu verarbeiten, die entsprechende Farben aufweisen, wie z.B. die rötlichen Rohkakaos aus Kamerun und Brasilien oder aber „orange“ gefärbte aus Südostasien (THÉRY, 1995).

Daneben spielen ein niedriger Wassergehalt des Rohkakaos (bessere Lagerfähigkeit) und eine homogene Größe der Rohkakaosamen (erleichtert die maschinelle Verarbeitung) eine wichtige Rolle (HULLOT, 1996).

Viele dieser Charakteristika sind herkunftsbedingt unterschiedlich ausgeprägt, so dass der Käufer normalerweise über die Kenntnis der Herkunft einer Rohkakaopartie Rückschlüsse auf die Qualität ziehen kann (DAND, 1999). Entsprechend verlassen sich Kakaobutterpresser beim Einkauf der Ware häufig auf die Erfahrungen, die sie mit früheren Lieferungen gemacht haben. Für sie ist deshalb eine beständige Qualität - innerhalb der normalen Variationsbreite eines landwirtschaftlichen Rohproduktes – sehr bedeutend.

Auch Schokoladenhersteller verlassen sich bei ihren zukünftigen Einkäufen auf Erfahrungen, die sie mit früheren Lieferungen gemacht haben. Um einen ersten Eindruck von der Ware zu erhalten, wird auch hier nach wie vor zuerst mit dem Schnitt-Test geprüft. Über den Geruchstest können dabei erste Rückschlüsse auf das Aromapotenzial (auch Abwesenheit von „off-flavors“) gezogen werden. Erst anschließend werden bei Bedarf weitere Eigenschaften analysiert, wobei zu bedenken ist, dass sich die Anforderungen an das Rohmaterial oder, besser ausgedrückt, die Präferenzen der weiterverarbeitenden Industrie, stark unterscheiden (selbst zwischen verschiedenen Fabriken eines Herstellers). Während Fabrikant A für Zumischungen auch größere Anteile an unfermentiertem, bitterem und adstringierendem Sulawesi-Kakao verwendet, benötigt Fabrikant B hellbrechenden Rohkakao aus Java für besonders milde helle Schokoladen.

Somit sind häufig die Beurteilungskriterien nicht einheitlich. Dies gilt insbesondere für das Kakaoaroma. Entsprechend werden für die Beurteilung des Aromapotenzials von Rohkakao durch den Fabrikanten häufig firmeninterne Aroma-Test-Panels ausgebildet, die nach eigenen Kriterien prüfen. Da sich das Kakaoaroma erst im Verlauf der Röstung vollständig entwickelt, beschränkt sich die Prüfung der Aromaqualität sowohl bei Kakaopulverherstellern als auch bei Schokoladenproduzenten bis heute auf die fertigen oder halbfertigen Produkte (vermahlene, geröstete Kakaomasse, auch Kakao-Liquor genannt).

Gerösteter Rohkakao enthält über 400 verschiedene aromawirksame Inhaltsstoffe (MOHR, 1976; FLAMENT, 1989), die Anzahl der Aromavorstufen in ungeröstetem Rohkakao ist entsprechend sehr hoch.

Durch neue Analysemethoden werden jedoch immer mehr aromawirksame Inhaltsstoffe entdeckt. Zu diesen zählen insbesondere bitter oder adstringierend wirkende phenolische Substanzen (vor allem Zimtsäurederivate) und Diketopiperazine wie sie bei STARK *et al.*, (2005a,b) beschreiben wurden, sowie eine große Gruppe verschiedener flüchtiger Substanzen (Frauendorfer & Schieberle, 2006). In der Regel werden diese Aromastoffe erst im Röstprozess aus während der Fermentation und Trocknung entstandenen Aromavorstufen gebildet. Zu den wichtigsten Vorstufen gehören freie Aminosäuren, Dipeptide, reduzierende Zucker und phenolische Substanzen.

Das Aromapotenzial des Rohkakaos ist für die weiterverarbeitende Industrie von größtem Interesse. Dabei ist die ökonomische Wichtigkeit jedoch geringer, als man vermuten möchte. Da für die meisten Massenprodukte durchschnittliche Kakao-Aromen ausreichen, wird die Abwesenheit von hohen Säuregehalten, Bitterkeit und „off-flavors“ (schinkiger Geruch durch Überfermentation, rauchiger Geruch durch Kontamination mit Rauch und Fremdgerüche durch falsche Lager- und Transportbedingungen) oftmals als wichtiger eingeschätzt als spezielle Aromanoten. Letztere sind nur für die Produktion von speziellen Produkten wie z. B. Edelschokoladen wichtig. Dieser Marktbereich war jedoch bisher mit einem Marktanteil von 5% am Gesamtvolumen gegenüber den Massenartikeln nur gering (FOWLER, 1994), steigt aber kontinuierlich an.

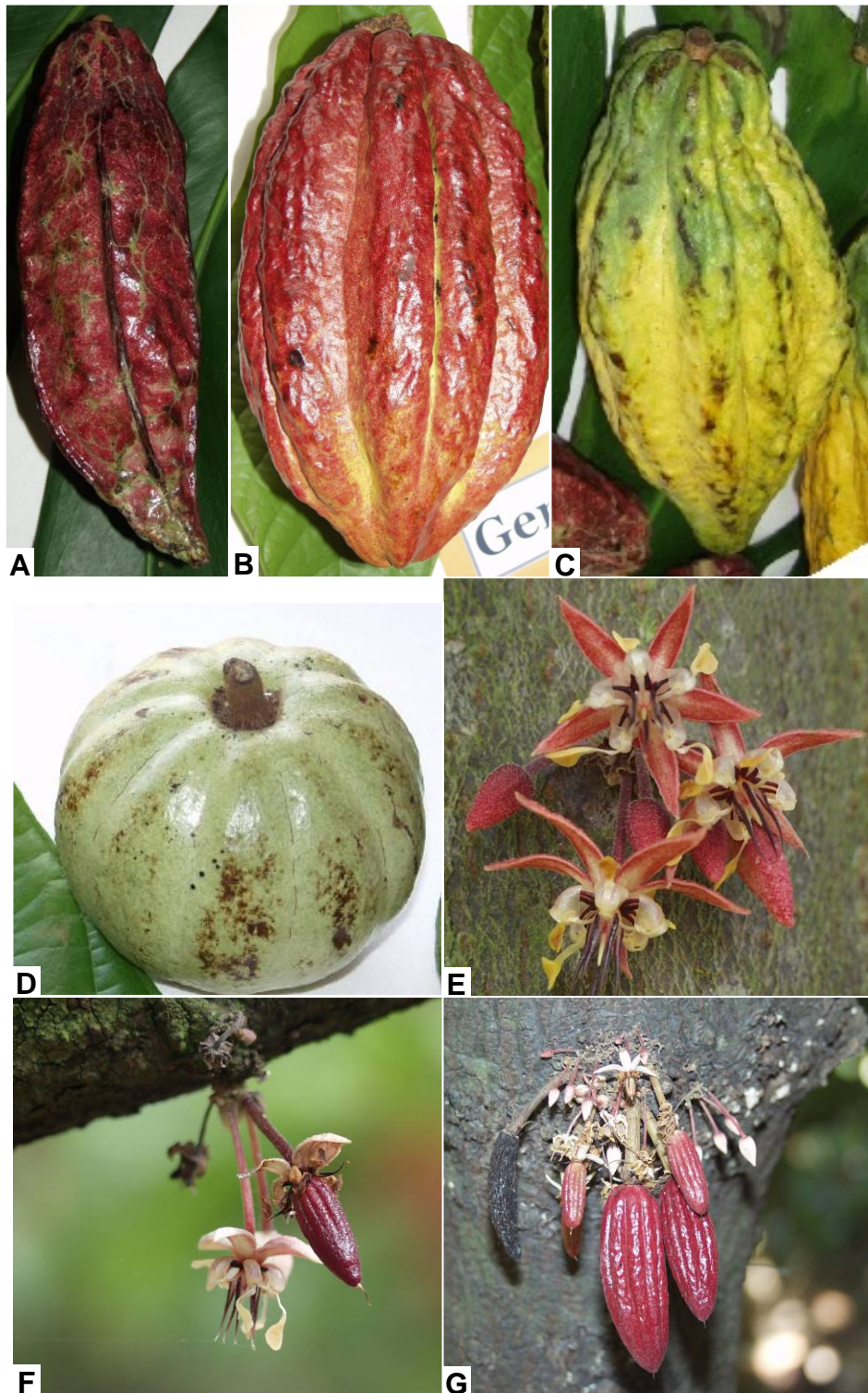


Abb. 4 Früchte und Blüten von *T. cacao* L.
A-D: verschiedene Fruchttypen von *T. cacao*, **A:** „largato“-Form vermutlich eines Criollo- oder Trinitarios, **B-C:** Trinitario-Hybride, **D:** „laranja“-Form unbekannter Herkunft (Früchte von der CATIE-Genbank, ausgestellt auf der 15. Internationalen Kakaokonferenz in Costa Rica, 2006).
E-G: Blüten und junge Früchte (Trinidad), **G:** zeigt ein ausgeprägtes Blütenkissen mit verschieden alten Früchten („cherelles“) und einer jungen, abgestorbenen Frucht (Beispiel für das „cherelle wilt“-Phänomen).

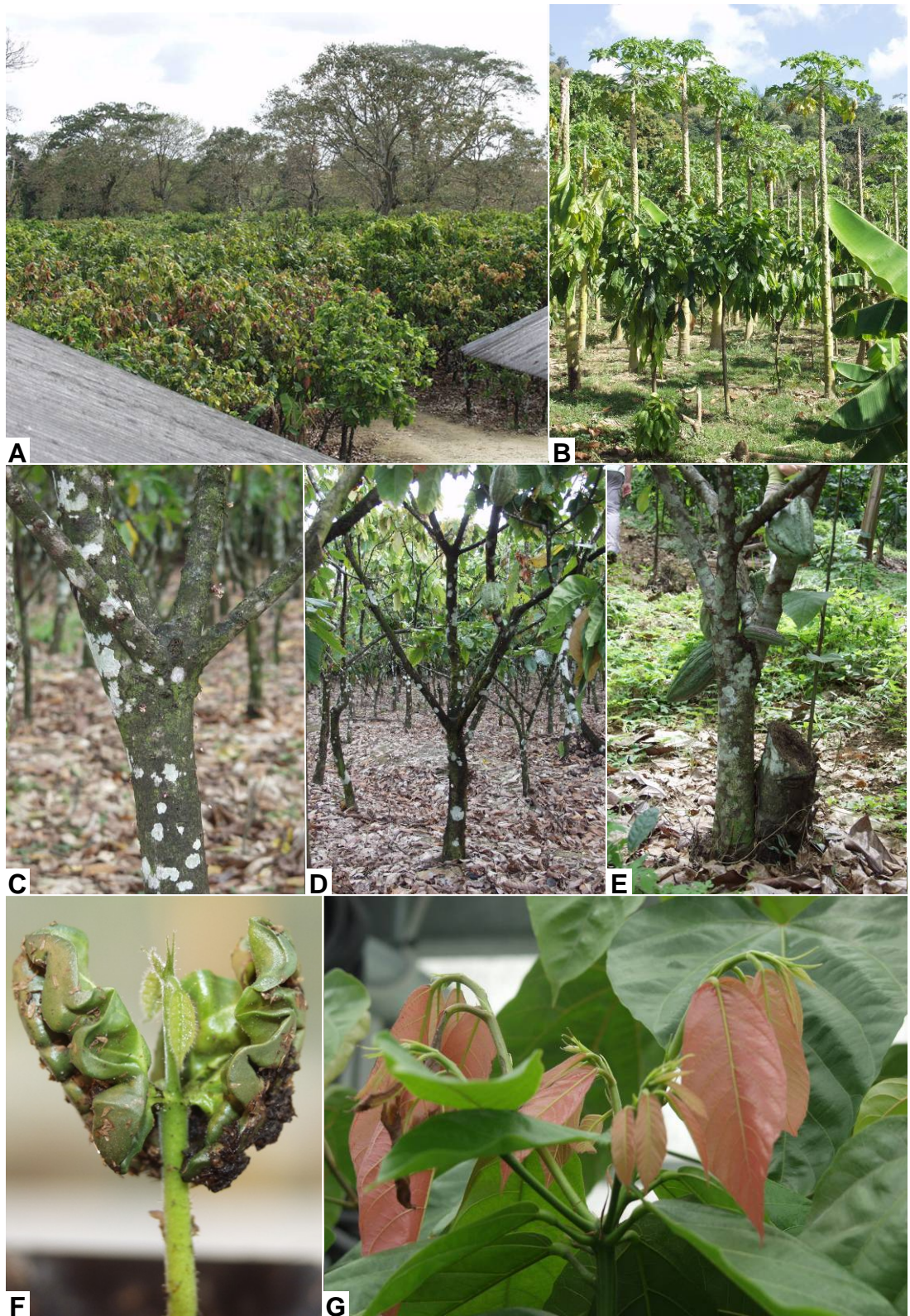


Abb. 5 Plantagenformen, Wuchsform, Bestockung, Keimling und Wuchsart der Blätter („flush“)
A-B: Plantagen, **A:** Monokultur mit wenigen Schattenbäumen (Trinidad), **B:** 3-4 Jahre alte Plantage mit Papaya, Bananen und Glyricidia-Schattenbäumen (letztere nicht dargestellt, Trinidad). **C-E:** Kakaobäume mit typischer Wuchsform (Jorquette, Fan-branches), **C:** ein Seitenast wurde aus der Jorquette entfernt, eine häufige Praxis in Plantagen, (Trinidad), **E:** etwa 10 Jahre alte Bestockung eines alten Kakaobaumes (Bahia, Brasilien). **F:** keimender Same (SNK-Klon, Herkunft Kamerun), Kotyledonen vergrünen im Verlauf des Keimungsprozesses, besonders deutlich wird dies wie hier zu sehen an ursprünglich weißen Samen (Gewächshaus, Hamburg). **G:** Junge Jorquette aus fünf Seitenästen, typisch für Kakao ist das schubweise Wachstum der Blätter („flush“).

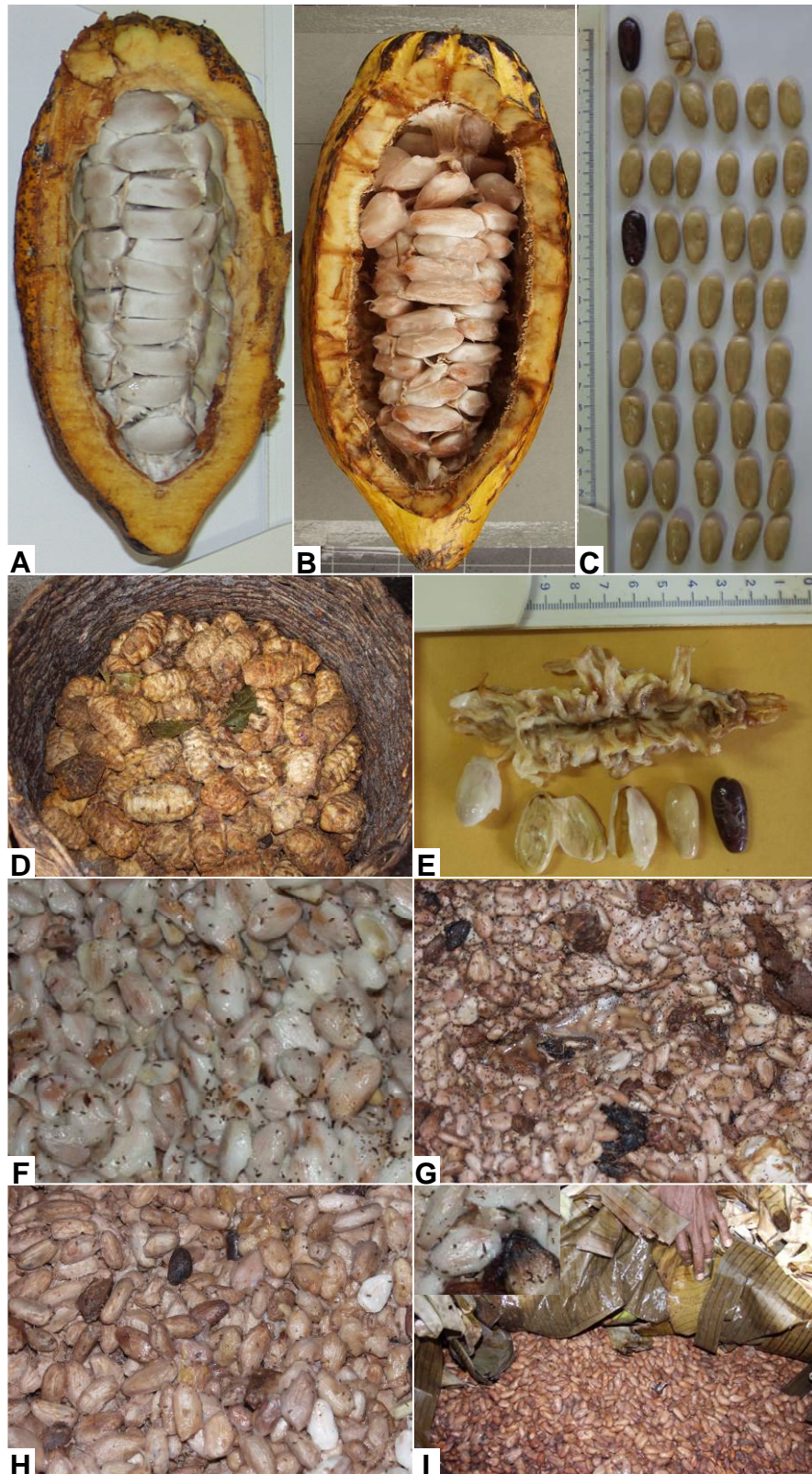


Abb. 6 Reife und gelagerte Frucht, Samenzusammensetzung, Pulpa, Fermentationsmassen
A: frisch geerntete, reife Frucht mit normalem Pulpa zu Samen Verhältnis. **B:** 6 Tage gelagerte Frucht mit verringertem Pulpa zu Samen Verhältnis. **C:** Samen aus einer Catongo-Frucht (LAF-Genotyp mit Anthocyan-Inhibitoren, eine Ausnahme unter Forastero-Kakaos; der väterliche Elternteil der Samen muss also von einem anderen Genotyp kommen) (Trinidad). **D:** Samen unreif geernteter Früchte, die aus einer Fermentationsmasse aussortiert wurden. Deutlich ist die unterschiedliche Konsistenz der Pulpa gegenüber Bild A und B zu erkennen (Bahia, Brasilien). **E:** Columela mit Samen, Pulpa und Testa einer Catongo-Frucht (Trinidad). **F-I:** unterschiedlich lang fermentierte Kakaosamen einer Kastenfermentation, **G** und **H** zeigen Inhomogenitäten: hier wurden frische Kakaosamen nachträglich zur Fermentationsmasse zugefügt.

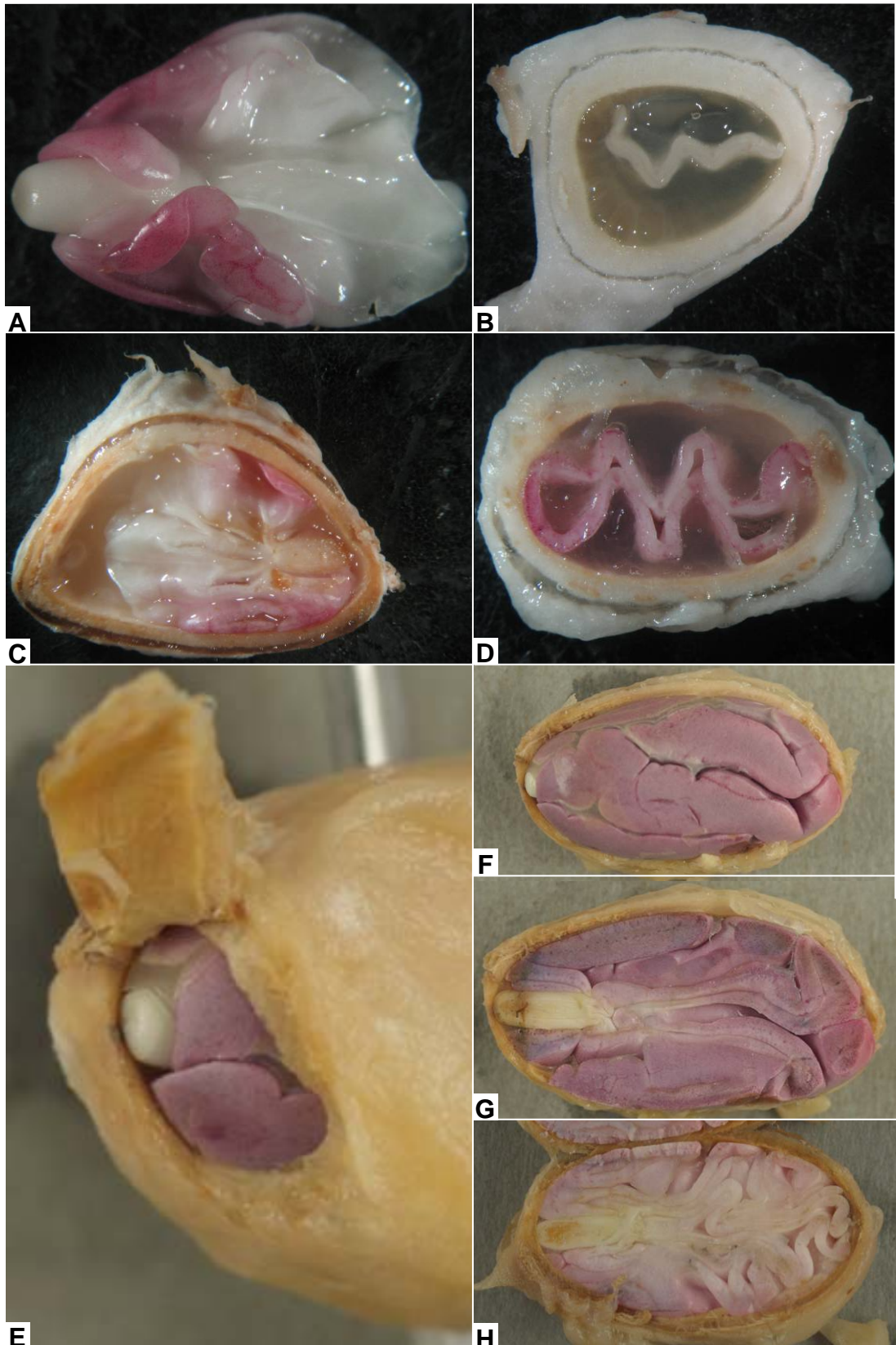


Abb. 7 Unreife und reife Samen
A: unreifer Kakaosame, ca. 10-20 Tage vor Reife. Die von der Radikula aus beginnende Anthocyan-einlagerung ist besonders deutlich an den Blattnerve zu erkennen. **B:** Querschnitt durch einen unreifen Samen. **C:** Längsschnitt durch einen unreifen Samen. **D:** Querschnitt durch einen unreifen Samen. **E-H:** Samen eines SNK-Genotyps mit unterschiedlich stark gefalteten Kotyledonen, **E:** Testa und Pulpa im Bereich um die Radikula entfernt, Ansatz der Raphe erkennbar.

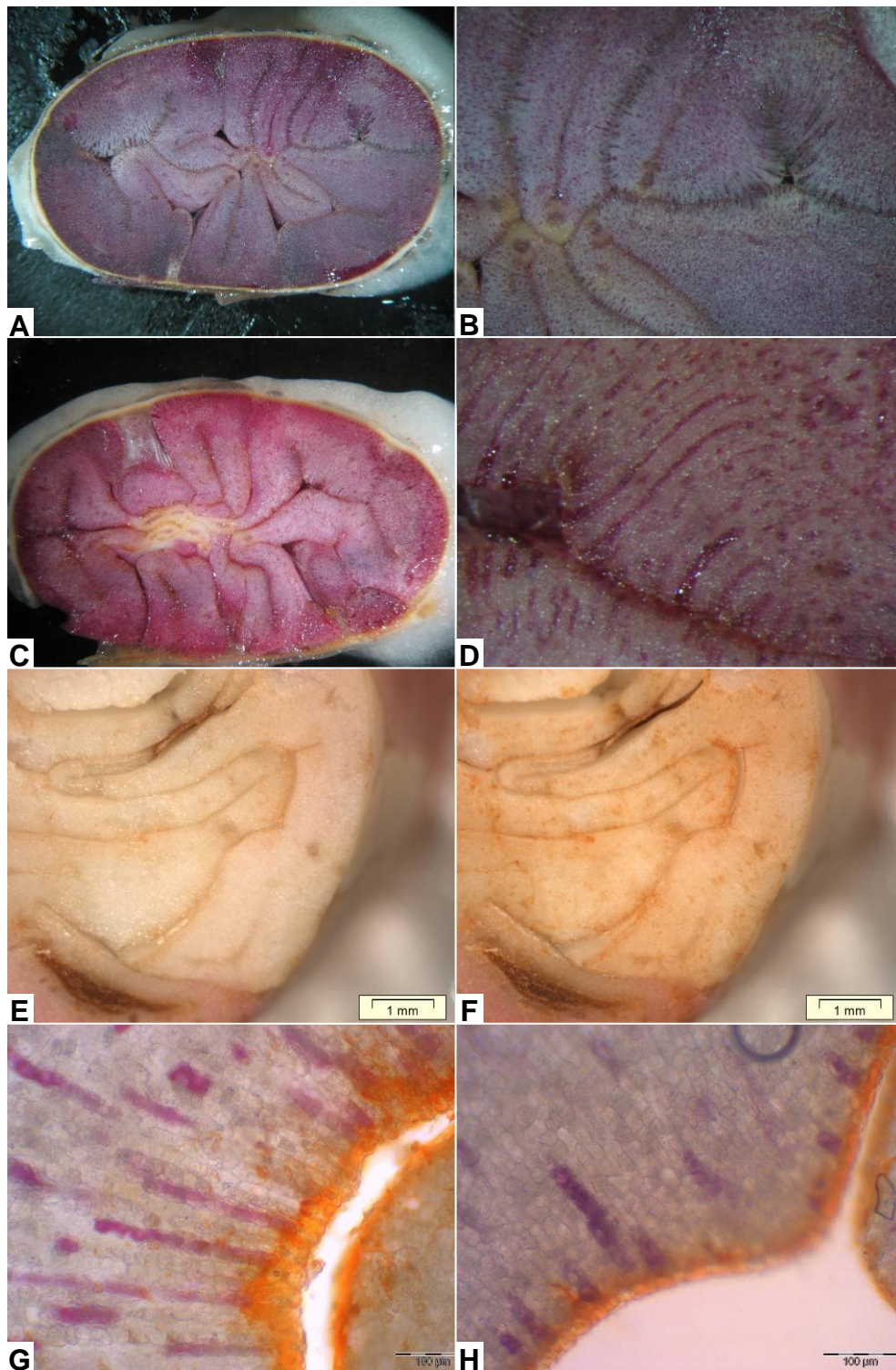


Abb. 8 Nahaufnahmen von Querschnitten der Kotyledonen zeigen polyphenolgefüllte Idioblasten **A-D**: Unterschiedlich stark vergrößerte Querschnitte von frischen Samen eines SNK-Klones (Kamerun), auf den Bildern **B** und **D** sind die mit phenolischen Substanzen gefüllten, überwiegend in Reihen angeordneten, violetten Idioblasten des Mesophylls deutlich zu erkennen. **E-F**: Querschnitt durch weiße Samen (SNK-Genotyp), Bild **E** zeigt die frische noch nicht verbräunte Schnittfläche, Bild **F** zeigt die gleiche Fläche 2 Minuten später. Polyphenolreiche Bereiche, wie Leitbündel und Epidermen zeichnen sich durch starke Verbräunungen aus. **G-H**: mikroskopische Aufnahmen, **G**: Querschnitt durch ein Kotyledon (frischer Same, WAA Genotyp), **H**: Querschnitt durch ein Kotyledon (unfermentierter, getrockneter, *schiefriger* Rohkakaosame). Die Idioblasten sind auch nach Trocknung noch als violett gefärbte Zellen erkennbar und mit phenolischen Substanzen gefüllt.



Abb. 9 Fermentation, Trocknung und Lagerung von Kakaosamen
A: Trocknungsboden mit verschiebbarem Dach (Trinidad). **B:** Kastenfermentation. Die Durchmischung des Fermentationsgutes erfolgt zweimal: von der oberen in den mittleren Kasten und von dort in den unteren Kasten. Getrocknet wird auf dem vorgelagerten Trockenboden, durch den erwärmte Luft strömt. **C:** Pulpaschleime zwischen Pulpa und Testa eines frisch fermentierten Samens. **D:** Kastenfermentation (Malaysia). **E:** Konventionelle Verschiffung von Sackware (Ladung aus Papua-Neuguinea, Löschhafen Hamburg). **F:** Rohkakaolagerung in einem Hamburger Lagerhaus. **G:** Feuchtigkeitsschaden mit Schimmelpilzbildung. **H:** Schnittbilder noch nicht vollständig getrockneter Rohkakaosamen (Bahia, Brasilien).



Abb. 10 Frische und fermentierte Kakaosamen mit unterschiedlichem Anthocyangehalt sowie Schnitt-Bilder diverser Fermentationsstadien der Probe Hai 1
A: Gegenüberstellung von frischen Kakaosamen unterschiedlicher Anthocyangehalte (erste zwei Spalten) und ihrer möglichen fermentierten Form (dritte Spalte). **B:** Schnittbilder von verschiedenen Fermentationsstadien der Probe Hai 1.

3 Material und Methoden

3.1 *Material*

3.1.1 Auswahl des Untersuchungsmaterials Rohkakao des Handels

Die Auswahl und Probenahme der Rohkakaoproben aus dem Handel erfolgte bis auf eine Ausnahme in den Jahren 2000-2001.

Je nach Textquelle werden zwischen 40 und 63 Länder als mögliche Kakaoproduzenten genannt, wobei über 80% der Weltkakaoproduktion aus nur 4 Ländern, namentlich der Elfenbeinküste, Ghana, Indonesien und Nigeria stammen. Die meisten anderen Länder produzieren nur geringe Mengen Rohkakao; einige davon exportieren keinen Rohkakao. Entsprechend ist es schwierig gehandelte Rohkakaoproben aus Ländern zu erhalten, die nur sehr geringe Mengen nach Deutschland exportieren. Bei der Auswahl der Proben wurde darauf geachtet, Rohkakaoproben von möglichst vielen nach Deutschland exportierenden Ländern zu erhalten. 1999 haben 29 Länder Rohkakao nach Deutschland exportiert. Insgesamt wurden 122 Proben aus 22 Ländern für diese Untersuchung zusammengestellt (siehe Tab. 3).

3.1.2 Das Untersuchungsmaterial

Als Untersuchungsmaterial wurden fermentierte, getrocknete Samen von *Theobroma cacao* L., so genannter Rohkakao, und fermentierte, getrocknete Samen von *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) K. Schum verwendet.

122 Proben wurden untersucht, davon stellen 116 Proben handelsübliche Arbitragemuster aus bereits verschifften, teilweise schon gelagerten Rohkakaopartien der Kakaoernten 1999-2000 dar. Arbitragemuster dienen als Rückstellproben der Qualitätskontrolle gehandelter Rohkakaopartien. Hierfür werden mindestens 30% der 60 bis 65 kg schweren Rohkakaosäcke einer Handlungspartie beprobt. Die so erhaltene Probe wird durch wiederholtes Mischen und Vierteln auf 6 kg reduziert. Davon erhalten die Vertragspartner des Handels je 2 kg zur Kontrolle der Ware, eine dritte Probe wird als Arbitragemuster für den Streitfall versiegelt und getrennt aufbewahrt. Neben der Angabe des Herkunftslandes (= Produktionsland) und der Qualitätseinstufung sind teilweise noch weitere Zusatzinformationen zur Handlungspartie auf dem Arbitragemuster verzeichnet. Dazu zählen u. a. die Produktionsregion (Sulawesi, Java, Maracaibo...), die Marke (KKK, Gunamur...), und die Erntezeit (main oder midcrop).

Die nicht aus dem Hamburger Hafen stammenden 6 Proben stellen ebenfalls zufällig genommene Mischproben von 1-2 kg Größe dar. Hierzu zählen vier unter definierten

Bedingungen fermentierte Proben aus Ecuador, die uns freundlicherweise von der Firma Nestlé zur Verfügung gestellt wurden. Bei diesen Proben handelt es sich um Rohkakao der Genotypen EET 95, EET 103, EET 48 und CCN 51. Dabei wurden frische Samen je eines Genotyps in Netztaschen (net-bags) innerhalb eines Fermentationshaufens 65 Stunden fermentiert. So wurde erreicht, dass die durch die Fermentation verursachten Rahmenbedingungen für alle Genotypen gleich waren. Die EET-Klone (EET bedeutet Estación Experimental Tropical) sind Kreuzungen aus Nacional-Kakao und „Venezuelano Amarillo“, vermutlich ein UAF-Kakao. CCN-Klone stellen beide Hybridmaterial aus Forastero- und Trinitario-Kakaos dar, wobei CCN 51 aus der Kreuzung des Hybriden IMC 67 x ICS 95 mit CCN 1 entstanden sein soll.

Die fünfte nicht aus dem regulären Rohkakaohandel stammende Probe wurde von der Firma „Grupo Quirollo“ zur Verfügung gestellt. Bei dieser Probe handelt es sich, nach den Angaben der Firma, um fermentierten und getrockneten Rohkakao nur eines Genotypes, CCN 31, aus Ecuador. Die Kreuzungseltern von CCN 31 sind nicht bekannt. Dieser Kakao ist sehr großsamig, weist aber im Gegensatz zu echten Nacional-Kakaos kein typisches Aroma auf. Die sechste nicht frei gehandelte Rohkakaoprobe stammt als einzige Probe aus Malaysia. Diese wurde von einem Besuch eines typischen kleinbäuerlichen Fermentationszentrums in der Nähe von Tawau (auf Borneo, Malaysia) im Jahr 2000 mitgebracht.

Abgesehen von Rohkakao der Art *T. cacao* L. wurden außerdem noch zwei aus Brasilien stammende Proben in die Studie miteinbezogen: fermentierte, getrocknete Samen der Art *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) K. Schum., welche im Jahr 2000 als Wildkakao gehandelt im Hamburger Hafen gelagert wurden. Aus fermentierten, getrockneten Samen dieser Art wird in Brasilien die so genannte „Cupulate“, eine hausgemachte schokoladenähnliche Spezialität, hergestellt (LIEBEREI, 1998).

Tab. 3 Probenname und Herkunft der Proben des Cocoa Atlases mit Kennzeichnung der Proben für die FAA-, die Diskriminanz- und die Clusteranalyse (Kapitel 3.2.2.10, 3.2.4.3, 3.2.4.4)
 In Spalte „Analyse der FAA“ (freie Aminosäuren) sind diejenigen Proben mit x markiert, an denen keine FAA-Analyse durchgeführt wurde. In den Proben Uga 2*, 8* und 9* wurde kein Catechin detektiert, weshalb sie nicht für die PCA-, Cluster- und Diskriminanzanalyse verwendet wurden.

Herkunft	Probenname	Bemerkung	Analyse der FAA	PCA + Diskriminanzanalyse	Clusteranalyse
Brasilien (n = 3)	Bra 1	<i>T. grandiflorum</i>			
	Bra 2	<i>T. grandiflorum</i>			
	Bra 3			*	
Dominikanische Republik	Dom 1			*	
Ecuador (n = 14)	Ecu 1			*	*
	Ecu 2	ASS		*	*
	Ecu 3	ASS		*	*
	Ecu 4	ASS		*	*
	Ecu 5	CCN 31		*	*
	Ecu 6	ASS		*	*
	Ecu 7	ASS		*	*
	Ecu 8	ASS		*	*
	Ecu 9			*	*
	Ecu 10	EET 95		*	*
	Ecu 11	EET 103		*	*
	Ecu 12	CCN 51		*	*
	Ecu 13	EET 48		*	*
	Ecu 14	ASSS		*	*
Elfenbeinküste (n = 17)	Elf 1	good fermented	x		
	Elf 2	good fermented	x		
	Elf 3	good fermented		*	*
	Elf 4	good fermented	x		
	Elf 5	good fermented	x		
	Elf 6	good fermented		*	*
	Elf 7	good fermented		*	*
	Elf 8	good fermented		*	*
	Elf 9	good fermented		*	*
	Elf 10	good fermented		*	*
	Elf 11			*	*
	Elf 12	good fermented		*	*
	Elf 13			*	*
	Elf 14			*	*
	Elf 15			*	*
	Elf 16			*	*
	Elf 17			*	*
Ghana (n = 7)	Gha 1	good fermented		*	*
	Gha 2	good fermented		*	*
	Gha 3			*	*
	Gha 4			*	*
	Gha 5			*	*
	Gha 6			*	*
	Gha 7			*	*
Haiti (n = 4)	Hai 1			*	*
	Hai 2	fair average quality		*	*
	Hai 3			*	*
	Hai 4			*	*
Indonesien (n = 10)	Ind 1			*	
	Ind 2	Java A, 20% dunkel		*	*
	Ind 3	Java A, 40-50%		*	*
	Ind 4	Sulawesi		*	
	Ind 5	Java A		*	*
	Ind 6	Sulawesi		*	
	Ind 7	Sumatra		*	
	Ind 8	Sumatra Plantagen		*	
	Ind 9	Sumatra		*	
	Ind 10	Java A		*	*
Kamerun (n = 1)	Kam 1	fair fermented		*	
Liberia (n = 1)	Lib 1	fair average quality		*	
Madagaskar (n = 9)	Mad 1		x		
	Mad 2		x		
	Mad 3			*	*
	Mad 4			*	*
	Mad 5			*	*

Fortführung der Tabelle „Probennahme und Herkunft der Proben des Cocoa Atlases mit Kennzeichnung der Proben für die FAA-, die Diskriminanz- und die Clusteranalyse“

Herkunft	Probename	Bemerkung	Analyse der FAA	PCA + Diskriminanz-analyse	Cluster-analyse
	Mad 6			*	*
	Mad 7			*	*
	Mad 8				*
	Mad 9			*	*
Malaysia (n = 1)	Mal 1			*	
Nigeria (n = 17)	Nig 1	good fermented	x		
	Nig 2	good fermented	x		
	Nig 3	fair average quality	x		
	Nig 4	good fermented		*	*
	Nig 5	good fermented		*	*
	Nig 6			*	*
	Nig 7			*	*
	Nig 8	good fermented		*	*
	Nig 9			*	*
	Nig 10			*	*
	Nig 11			*	*
	Nig 12			*	*
	Nig 13			*	*
	Nig 14			*	*
	Nig 15	good fermented		*	*
	Nig 16			*	*
	Nig 17			*	*
Papua-Neuguinea (n = 8)	Pap 1			*	*
	Pap 2			*	*
	Pap 3			*	*
	Pap 4			*	*
	Pap 5			*	*
	Pap 6			*	*
	Pap 7		x		
	Pap 8			*	*
Salomonen (n = 2)	Sal 1			*	
	Sal 2			*	
São Tomé und Príncipe (n = 1)	Sao 1			*	
Sierra Leone (n = 1)	Sie 1			*	
Tansania (n = 4)	Tan 1			*	*
	Tan 2			*	*
	Tan 3	fair average quality		*	*
	Tan 4			*	*
Togo (n = 5)	Tog 1			*	*
	Tog 2			*	*
	Tog 3			*	*
	Tog 4			*	*
	Tog 5			*	*
Trinidad und Tobago (n = 1)	Trin 1			*	
Uganda (n = 9)	Uga 1			*	*
	Uga 2*				
	Uga 3	Uganda natural		*	*
	Uga 4	Uganda natural		*	*
	Uga 5	Uganda natural		*	*
	Uga 6	fair average quality		*	*
	Uga 7			*	*
	Uga 8*	Uganda natural			
	Uga 9*	Uganda natural			
Vanuatu (n = 1)	Van 1	Grad I	x		
Venezuela (n = 5)	Ven 1			*	*
	Ven 2			*	*
	Ven 3			*	*
	Ven 4	superior fermented		*	*
	Ven 5				
Summe	122		11	105	89

Die Proben werden folgend mit ihrem Probennamen und, sofern nötig, mit weiteren Zusatzinformationen der Spalte „Bemerkung“ aus Tab. 3 erwähnt.

3.1.3 Einordnung der Herkünfte nach dem Internationalen Kakaoabkommen in Edel- oder Konsumkakao-Anbauländer

Alle Proben bis auf die Probe Mal 1 und die Proben Ecu 5, 10-13 (entsprechen den Genotypen EET 95, EET 103, EET 48, CCN 51, und CCN 31) repräsentieren gehandelte und verschifft Rohkakaopartien aus dem Hamburger Hafen. Kakao-Anbauländer, die Edelkakao produzieren sind im Annex C des Internationalen Kakaoabkommens gelistet. Zu diesen zählen die Herkünfte Costa Rica, Dominkanische Republik, Ecuador, Grenada, Indonesien, Jamaica, Madagaskar, Panama, Papua-Neuguinea, Saint Lucia, Saint Vincent und die Grenadinen, São Tomé, Sri Lanka, Surinam, Trinidad und Tobago sowie Venezuela. In Tab. 4 sind die verschiedenen Herkünfte, aus denen die Proben dieser Studie stammen gelistet und diejenigen des Annex C grau hinterlegt.

Tab. 4 Herkunft der Proben und Probenanzahl
Grau hinterlegt sind diejenigen Herkünfte, die nach Annex C des Internationalen Kakaoabkommens Edelkakao anbauen

	Afrika		Mittel-amerika		Süd-amerika		Süd-Ost-Asien/ Pazifik	
		n		n		n		n
Elf	17		Dom	1	Bra	1	Ind	1
Gha	7		Hai	4	Bra T.g.	2	Ind Java	4
Kam	1		Tri	1	Ecu	10	Ind Sum	3
Lib	1				Ecu Mono	4	Ind Sul	2
Mad	9				Ven	5	Mal	1
Nig	17						Pap	8
São	1						Sal	2
Sie	1						Van	1
Tan	4							
Tog	5							
Uga	9							
Länder	11		3		3		5	
Herkünfte	11		3		4		8	
Proben pro Kontinent	72		6		20		21	
Σ Proben	122							

3.1.4 Stadienspezifische Untersuchungen

3.1.4.1 Stadienspezifische Untersuchungen an 5 Jahre gelagertem Rohkakao

Für die stadienspezifischen Untersuchungen wurde der Schnitt-Test an den bereits für den Cocoa Atlas verwendeten Proben Hai 1, Ind 6, Gha 6 und Tan 4 erneut durchgeführt. Dabei wurde das Probenmaterial in die Stadien *schiefrig*, *violett*, *schiefrig-violett* und *braun* getrennt. Die Probenaufarbeitung erfolgte wie in Kapitel 3.2.2.1 beschrieben, die Entfettung wurde wie in Kapitel 3.2.2.5 „Bestimmung des Fettgehaltes“ beschrieben durchgeführt.

3.1.4.2 Stadienspezifische Untersuchungen an 1 Jahr gelagertem Rohkakao

Für den Vergleich der biochemischen Eigenschaften unterschiedlicher Fermentationsstadien wurde zusätzlich zu den Rohkakaoproben des Cocoa Atlases 2002 eine Handelsprobe aus

Ecuador untersucht. Insbesondere für die Enzymaktivitätsmessungen wurde dadurch exemplarisch der Vergleich zwischen 5 Jahre gelagerten Proben (aus dem Cocoa Atlas) und 1 Jahr gelagerten (Ecuadorprobe) möglich.

Hierbei handelt es sich nicht wie bei den Proben des Cocoa Atlases um ein Arbitragemuster von 2 kg, sondern um einen im Jahr 2006 gehandelten Rohkakaosack von 60 kg aus dem Hamburger Rohkakaohandel. Folgend wird diese Probe als „Ecu“ bezeichnet. Aus den 60 kg Rohkakao wurde durch Mischen und Teilen eine repräsentative Probe von 2 kg erhalten. Diese wurde wie in Kapitel 3.2.1.1 dargestellt einem Schnitttest unterzogen. Für die stadienspezifischen Analysen wurden je 50 g Untersuchungsmaterial aus *schiefbrig*, *violett*, *schiefbrig-violett* und *braun* eingestuften Stadien entschalt, vermahlen (Kapitel 3.2.2.1) und über die Kugelmühle entfettet (Kapitel 3.2.2.2). Die Mischprobe wurde auf gleiche Weise aus etwa 300 g geschnittenem Rohkakao hergestellt.

3.1.5 Rohkakaomaterial „Criollo Merideño“ und „Porcelana“ für die Untersuchung des Gehaltes an freien Aminosäuren im Verlauf der Fermentation von Edelkakao

Das Edelkakaomaterial aus der Großgruppe der Criollo-Kakaos wurde freundlicherweise von Alexis Zambrano und Gladys de S. Ramos von der INIA (Instituto de Investigaciones Agrícolas del Estado Mérida) in Venezuela zur Verfügung gestellt. Es handelte sich dabei um 0-72 Stunden fermentierte und anschließend getrocknete Rohkakaosamen von zwei verschiedenen Populationen der Criollo-Großgruppe.

Nach Mitteilung von Herrn Zambrano handelt es sich bei dem folgend als „Criollo“ bezeichneten Material um Samen, die als „Criollo Merideño San Juan de Lagunillas“ (Genotyp und Ort) bezeichnet wurden und von der gleichen Plantage stammen. Mit diesem Material wurden 2 Fermentationen zu unterschiedlichen Jahreszeiten (Saison 1 im Jahr 2003 und Saison 2 im Jahr 2004) durchgeführt. Diese beiden Jahreszeiten unterschieden sich stark in Bezug auf die klimatischen Verhältnisse (in einer Saison hatte es stark geregnet und in der anderen war es trockener und wärmer, wobei unterschiedliche Pulpamengen ausgebildet wurden, wobei leider nicht bekannt ist, welche der Bedingungen in welcher der Jahreszeiten herrschten).

Bei dem anderen Material handelte es sich um unterschiedlich lang fermentierten Rohkakao der Population „Porcelana“.

Die drei Fermentationen wurden in Kästen mit den Maßen 60 cm x 60 cm x 60 cm über einen Zeitraum von 72 Stunden durchgeführt. In diese Kisten wurden die frisch aus den Früchten entnommenen Samen gelegt und anschließend mit Bananenblättern und Säcken zugedeckt, um Wärmeverluste zu vermeiden.

Nach 24 Stunden erfolgte die 1. Durchmischung, nach 48 die 2. Mischung. Dabei wurde die Fermentationsmasse in drei Schichten aufgeteilt und diese nach dem folgenden Schema gemischt. Dabei wurde jeweils die obere Fermentationsmasse nach oben, und die mittlere nach unten geschichtet.

Tab. 5 Schema der Mischung der drei Fermentationsschichten

0 Stunden		24 Stunden		48 Stunden
Schicht 1	↘ ↗	Schicht 3	↘ ↗	Schicht 2
Schicht 2	↘ ↗	Schicht 1	↘ ↗	Schicht 3
Schicht 3	↘ ↗	Schicht 2	↘ ↗	Schicht 1

Nach 72 Stunden Fermentation wurden die Samen getrocknet. An den ersten beiden Tagen wurden sie für je zwei Stunden, am 3. Tag für drei Stunden, am 4. Tag für vier Stunden und ab dem 5. Tag den ganzen Tag der Sonne ausgesetzt und stündlich gewendet bis sie auf einen Wassergehalt zwischen 7% und 8% getrocknet waren.

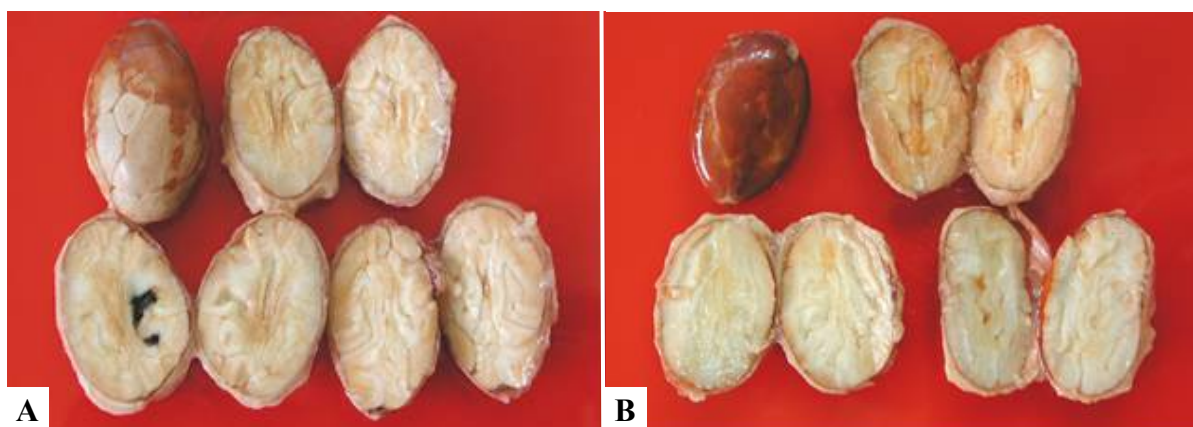


Abb. 11 Schnittbilder von 48 und 72 Stunden fermentierten „Criollo“-Kakaosamen
 Dargestellt ist der Einfluss der Fermentation auf das Erscheinungsbild „Criollo“-Kakaosamen: **A**: nach 48 Stunden Fermentation und **B**: nach 72 Stunden Fermentation (Bilder freundlicherweise von A. Zambrano zur Verfügung gestellt)

Es ist allerdings nicht bekannt, ob es sich bei den als „Criollo“ und „Porcelana“ deklarierten Proben jeweils um einen einzigen Genotypen oder um eine bestimmte Mischung von Genotypen handelt. Daher wird bei diesen beiden Gruppen von Proben folgend von Populationen gesprochen. Nach Aussage von Herrn Zambrano handelt es sich um einheitliches und gut voneinander unterscheidbares Material.

Nachfolgend sind Schnittbilder von unterschiedlich lang fermentierten „Criollo“- und „Porcelana“-Samen (Abb. 11, Abb. 12) und von 72 Stunden fermentierten aber unterschiedlich lang getrockneten „Criollo“ und „Porcelana“-Rohkakaoproben (Abb. 13, Abb. 14) abgebildet.



Abb. 12 Schnittbilder von 24, 48 und 72 Stunden fermentierten „Porcelana“-Kakaosamen
Dargestellt ist der Einfluss der Fermentation auf das Erscheinungsbild der „Porcelana“-Kakaosamen:
A: nach 24 Stunden Fermentation. **B:** nach 48 Stunden Fermentation. **C:** nach 72 Stunden
Fermentation (Bilder freundlicherweise von A. Zambrano zur Verfügung gestellt)



Abb. 13 Schnittbilder von 72 Stunden fermentierten, 0-6 Tage getrockneten „Criollo“-Rohkakaosamen
Dargestellt ist der Trocknungseinfluss auf das Erscheinungsbild von 72 Stunden fermentierten „Criollo“-Rohkakaosamen. **A:** 0 Tage getrocknet. **B:** 1 Tag getrocknet. **C:** 2 Tage getrocknet. **D:** 3 Tage getrocknet. **E:** 4 Tage getrocknet. **F:** 5 Tage getrocknet (Bilder freundlicherweise von A. Zambrano zur Verfügung gestellt)



Abb. 14 Schnittbilder von 72 Stunden fermentiertem, 0-5 Tage getrocknetem „Porcelana“-Rohkakaosamen
 Dargestellt ist der Trocknungseinfluss auf das Erscheinungsbild von 72 Stunden fermentierten „Porcelana“-Rohkakaosamen **A**: 0 Tage getrocknet, **B**: 1 Tag getrocknet, **C**: 2 Tage getrocknet, **D**: 3 Tage getrocknet, **E**: 4 Tage getrocknet (Bilder freundlicherweise von A. Zambrano zur Verfügung gestellt)

3.1.6 Samenmaterial aus Trinidad und Tobago für die Inkubationsversuche

Die Inkubationsversuche wurden mit Pflanzenmaterial der Genotypen IMC 67 (6 Früchte in der 1. Lieferung, 5 Früchte in der 2. Lieferung im Januar/Februar 2006) und GU 277G T4 (7 Früchte; diese 3. Lieferung traf im Februar 2007 ein) durchgeführt. Die Früchte wurden direkt nach der Ernte aus Trinidad und Tobago per Luftpost nach Hamburg geschickt und waren 4-5 Tage unterwegs.

Bei dem Klon IMC 67 (IMC bedeutet „Iquitos Mixed Calabacillo“ und ist eine von Pound im Oberen Amazonasgebiet gemachte Kollektion von Genotypen) handelt es sich um einen Upper Amazon Forastero vermutlich aus Peru, bei dem GU 277G T4 um einen aus einem Samen gezogenen, „wilden“ Lower Amazon Forastero aus dem Guiana-Gebiet (ICGD, 2007).

3.1.7 Samenmaterial aus Trinidad und Tobago für die Untersuchung der freien Aminosäuren in unfermentierten und fermentierten Samen unterschiedlicher Klone

Die Fermentationen wurden 2004 an reifen Samen durchgeführt. Für die Fermentation wurden die folgenden Klone verwendet: EET 400, ICS 1, ICS 94, WAA, IMC 61 und den CCL 200 (synonym zu CRU 200), CCL 201 (synonym zu CRU 201), CCL 202 (synonym zu CRU 202), CCL 217 (synonym zu CRU 217). Ursprüngliche Herkunft und Namensbezeichnung der verwendeten Genotypen (aus ICGD, 2007):

- EET 400 stammt aus der Sammlung „Estacion Experimental Tropical“ aus Ecuador.
- ICS 1 und 94 stammen aus einer 1930 von Pound durchgeführten Sammlung (ICS = Imperial College Selections) in Trinidad (Trinitario- und Criollo-Kakaos, wobei die Criollo Genotypen aus der Sammlung verloren gegangen sein sollen).
- IMC 61 stammt aus der ursprünglich von Pound durchgeführten Sammlung „Iquitos Mixed Calabacillo“ (Mid Channel) und stammen von Upper Amazon Forasteros ab.
- WAA stammt von nicht näher definierten West Afrikan Amelonado Kakaobäumen ab.
- CCL 200, 201, 202 und 217 stellen Trinitario-Klone aus der Trinidad selected Hybrid-Sammlung aus der Cocoa Research Unit in Trinidad dar.

Die Früchte wurden in der Genbank der Cocoa Research Unit in Trinidad geerntet und das Samenmaterial entweder direkt nach der Ernte unter Sonnentrocknung getrocknet (unfermentiert, getrocknet) oder für 7 Tage unter standardisierten Bedingungen (fermentiert in Holzboxen, Mischung nach 48 und 96 Stunden) in einer homogenen Fermentationsmatrix fermentiert und anschließend getrocknet (7 Tage fermentiert und getrocknet) (SUKHA *et al.*, 2004).

3.2 Methoden

Sofern nicht anders angegeben stammen alle verwendeten Chemikalien von Merck (Fa. VWR).

3.2.1 Warenkundliche Charakterisierung

Der Schnitt-Test wurde in der Firma Quast & Consorten (Hamburg) erlernt und anschließend nach der üblichen Handelspraxis ausgeführt. Der Schnitt-Test wurde entsprechend der CAL-Richtlinie durchgeführt. Auch die Einteilung der Proben in die Klassen „good fermented“

(g.f.) und „fair fermented“ (f.f.) erfolgte entsprechend diesem Regelwerk. Nicht dargestellt sind hier die Ergebnisse des Geruchs-Tests sowie die des 100-Bohngewichtes (letzteres lässt sich aus dem mittleren Samengewicht errechnen).

3.2.1.1 Anteile der Fermentationsstadien *schiefrig*, *violett*, *braun* und *hellbrechend* sowie durch Schimmel oder Insektenfraß beschädigte Rohkakaosamen

Für diesen Teil des handelsüblichen Schnitt-Testes wurden dreimal 100 Rohkakaosamen längs halbiert und der Anteil *schiefriger*, *violetter*, *brauner* und *hellbrechender*, durch Insekten oder Schimmel beschädigter und gekeimter Rohkakaosamen ermittelt (Abb. 15, Abb. 16, Abb. 17). Zusätzlich zu dem normalen Schnitt wurde auch die Anzahl *halb-violetter* (*braun-violett*) und *hellbrauner* Rohkakaosamen festgehalten. Aus den je drei Werten wurde ein Mittelwert gebildet und nach üblicher Praxis als Prozentzahl der Probe ausgegeben (DAND, 1993)

Die Farbe der aufgeschnittenen Rohkakaobohnen, d.h. der Anteil *schiefriger*, *violetter*, *hellbrechender* (von *hellbraun* bis fast *weiß*) und *brauner* Rohkakaosamen dient als Hinweis für den Fermentationsgrad. Aus diesem Grund werden sie folgend auch als Fermentationsstadien bezeichnet und zur Unterscheidung zu den gleichnamigen Farben kursiv geschrieben. Hohe Anteile an *schiefrigen* und *violetten* Samen deuten auf eine unzureichende Fermentation hin. So gelten im Anschnitt *schiefrig* erscheinende Rohkakaosamen mit wachsiger Konsistenz als nicht fermentiert, violette als unterfermentiert und braune Rohkakaosamen als voll fermentiert.

Hellbrechende, *hellbraune* oft auch als *weiße* Samen bezeichnete Rohkakaosamen (meist aus Java, Papua-Neuguinea, Venezuela oder Madagaskar stammend) kamen früher nur bei der Großgruppe der Criollos vor. Heute gibt es viele Trinitarios und mindestens eine Forastero-Mutante (sog. Catongo), die weiße Samen aufweisen (Abb. 12).



Abb. 15 Schnitt-Test Beispiel je eines *schiefrigen*, *schiefrig-violetten* und *violetten* Rohkakaosamens



Abb. 16 Schnitt-Test Beispiel je eines *braunen* und *weißen* Rohkakaosamens



Abb. 17 Schnitt-Test Beispiel je eines durch Schimmel und durch Insekten befallenen Rohkakaosamens

3.2.1.2 Anteile an Doppelbohnen und Fremdbestandteilen

Die Gewichtsanteile an so genannten Doppelbohnen (mindestens 2 mit anhaftender Pulpa zusammengeklebte Rohkakaosamen, synonym für Rohkakaoklumpen, die einen Durchmesser größer 2 cm aufweisen) und an Fremdbestandteilen (u. a. Steine, Nägel, Fruchtschalenstücke) wurden an der Gesamtprobe (in der Regel 2 kg) ermittelt.

3.2.1.3 Samengewicht und Samengewichtsverteilung

Der Mittelwert des Samengewichtes wurde wie folgt berechnet: Mittelwert des 100-Bohnengewichtes geteilt durch 100. Das 100-Bohnengewicht ist ein feststehender Begriff der warenkundlichen Beschreibung von Rohkakaopartien. Dieser Wert wurde an dreimal 100 zufällig entnommenen Rohkakaosamen mittels Waage auf $\pm 0,01$ g genau bestimmt und als Mittelwert angegeben.

Für die Samengewichtsverteilung wurden 100 Rohkakaosamen einzeln auf $\pm 0,01$ g genau gewogen. Aus den Gewichtsverteilungen lassen sich Aussagen zur Heterogenität des Ausgangsmaterials ableiten (siehe Kapitel 3.2.4.2).

3.2.1.4 Anteil an Testa, Radikula und Kotyledonen

Die in Kapitel 3.2.1.3 beschriebenen dreimal 100 Rohkakaosamen wurden in ihre anatomischen Bestandteile Testa (zusammengesetzt aus Testa und Pulparesten, folgend Testa bezeichnet), Radikula und Kotyledonen getrennt. Aus den Gewichtsanteilen der drei Messungen wurde als der Mittelwert berechnet und angegeben. Die von Testa und Radikula befreiten Kotyledonen dienten als Basismaterial (Mischprobe) für die weiteren Analysen.

3.2.1.5 Fotografische Dokumentation

Von jeder Probe wurden mit einer Digitalkamera (Olympus E 10) drei Fotos gemacht, die eine Schüttprobe, 25 geschnittene Rohkakaosamenhälften und 25 einzelne Rohkakaosamen zeigen. Alle Schnittbilder der Proben sind im Cocoa Atlas 2002 (LIEBEREI & ROHSIUS, 2002) dargestellt.

3.2.2 Biochemische und chemische Analysen

3.2.2.1 Probenvorbereitung der Handelsproben des Cocoa Atlases

Als Basismaterial für die weiteren Analysen wurden ca. 300 g Kotyledonen von dem in Kapitel 3.2.1.4 beschriebenen Probenmaterial wie folgt aufbereitet:

Die Kotyledonen wurden 24 Stunden bei -20°C eingefroren und anschließend langsam mit einer Ultrazentrifugalmühle (ZU 100, ohne Sieb, 12er Kranz, Fa. Retsch) bei 15.000 rpm gemahlen. Mit einem Prüfsieb (3 mm) wurde dann abgeseibt und größere Partikel (> 3 mm) erneut gemahlen bis mindestens 98% des Mahlgutes eine Korngröße kleiner als 3 mm aufwiesen. Die Probe wurde in 2 gleichen Teilen in hitze- und kältebeständige PVC-Beutel verschweißt und bei 4°C aufbewahrt. Dieses Material wird folgend als "gemahlene Kotyledonen" bezeichnet. Es wurde für die Analyse des Fettgehaltes und der Fettzusammensetzung verwendet.

3.2.2.2 Probenvorbereitung der stadienspezifischen Analysen aller nicht im Cocoa-Atlas verwendeten Proben (Inkubationsproben, „Criollo“- und „Porcelana“-Proben, Handelsprobe Ecu, Fermentationsproben aus Trinidad)

Bei fermentierten getrockneten Rohkakaosamen wurden jeweils die Testa mit anhaftenden Pulparesten und die Radikula entfernt, die Kotyledonen gefriergetrocknet und anschließend entfettet. Bei den direkt nach der Inkubation eingefrorenen Inkubationsproben wurden, sofern noch vorhanden die Testa mit anhaftenden Pulparesten vor dem Gefrierprozess entfernt. Anschließend wurden sie gefriergetrocknet. Bei diesen Samen wurde die Radikula erst kurz vor der Entfettung entfernt.

Die Entfettung der gefriergetrockneten Kotyledonen erfolgte mittels Kugelmühle (Typ MM200, Fa. Retsch). Dafür wurden 1-2 g grob zerkleinertes Material zusammen mit 10 mL Hexan und 6 Edelstahlkugeln in den Behältern der Kugelmühle für 10 min bei einer Frequenz von $F = 20 \text{ s}^{-1}$ auf eine Partikelgröße von ca. $1 \mu\text{m}$ zerkleinert. Das Homogenat wurde danach quantitativ aus dem Malgefäß in eine Filtrvorrichtung (Vakuum Filtrationsgerät mit Glasfritte und $0,45 \mu\text{m}$ Polyamid Filterpapier, Fa. Sartorius) überführt und mittels dreimaliger Spülung mit 25 mL Petrolether (Kp. $40-60^{\circ}\text{C}$) entfettet. Der Filtrrückstand wurde im Vakuumofen (Fa. Hereaus) getrocknet und das fettfreie Material - folgend als fettfreie Trockenmasse bezeichnet und mit ffTM abgekürzt - bis zur Analyse bei -20°C gelagert.

3.2.2.3 Bestimmung des Wassergehaltes

Die Wassergehaltsbestimmung der Rohkakaosamen, der gemahlene Kotyledonen und des entfetteten Materials (Rückgabematerial des IQ. Köln, siehe Kapitel 3.2.2.5) wurde entsprechend der Methode Nr. 3.6 des Methodenbuchs Band III "Die chemische Untersuchung von Futtermitteln" VDLUFA (1976) durchgeführt. Die Proben wurden bei 103°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

3.2.2.4 Bestimmung des pH-Wertes

Die pH-Wert-Messung der Rohkakaoproben des Cocoa Atlases wurde leicht verändert nach der offiziellen AOAC Methode 970.21 pH of Cocoa Products, durchgeführt.

5,000 g gemahlene Kotyledonen (< 3 mm) (siehe Kapitel 3.2.2.1) wurden in ein Becherglas gewogen und 45 mL kochendes destilliertes Wasser zugefügt, 3 min gerührt und anschließend filtriert (Nr. 595 ½, Fa. Schleicher & Schuell). Nach Erhalt von ca. 20 mL Filtrat und Abkühlung auf 20°C wurde der pH-Wert gemessen (654 pH-Meter, Fa. Metrohm).

Für die pH-Wert-Messungen aller anderen Proben wurde die Einwage auf 1,000 g gemörseretes Probenmaterial in 10 mL kochendem destilliertem Wasser minimiert. Dieses wurde 3 min gerührt und anschließend filtriert (Nr. 595 ½, Fa. Schleicher & Schuell). Der pH-Wert des Filtrats wurde bei 20°C bestimmt.

3.2.2.5 Bestimmung des Fettgehaltes und der Fettzusammensetzung

Die Bestimmung des Fettgehaltes und der Fettzusammensetzung (freie Fettsäuren, Di- und Triglyceride, Säurezahl) der Rohkakaoproben des Cocoa Atlases wurden in Form einer Auftragsarbeit am Lebensmittelchemischen Institut (LCI, Köln), welches dem Bundesverbandes der Deutschen Süßwarenwirtschaft zugeordnet ist, unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. R. Matissek und Herrn Dr. H. G. Burkhardt durchgeführt.

Die Analysen wurden an "gemahlene Kotyledonen" (siehe Kapitel 3.2.2.1) durchgeführt.

Bestimmung des Fettgehaltes

Der Gesamtfettgehalt wurde nach der Weibull-Stoldt Methode der ICA (früher IOCCC) 14-1972 durchgeführt. Eine zweite Aufbereitung erfolgte über eine mehrfache kalte Petroletherextraktion. Auch hierfür wurde das Probenmaterial "gemahlene Kotyledonen" aus Kapitel 3.2.2.1 verwendet. Dieses wurde in einer Kugelmühle vermahlen und das Mahlgut mehrfach durch Zentrifugation mit Petrolether kalt extrahiert. Diese Extraktion führte zu einem entfetteten Pulver, welches weniger als 2% Fett aufwies und folgend als "entfettetes Material" bezeichnet wird.

Das "entfettete Material" wurde für die Analyse der Methylxanthine, des Gesamtgehaltes an phenolischen Substanzen (Kapitel 3.2.2.12), für die Bestimmung der Phenole Epicatechin und Catechin (Kapitel 3.2.2.11), der freien Aminosäuren (Kapitel 3.2.2.10), des Antioxidativen Potentials (Kapitel 3.2.2.13) und des Kjeldahl-Stickstoffgehaltes (Kapitel 3.2.2.8) verwendet. Daher wurde der über die kalte Extraktion ermittelte Fettgehalt auch für die Berechnung der fettfreien Trockensubstanz dieser Analysen verwendet (Die Ergebnisse der kalten Extraktion lieferte in der Regel höhere Werte (maximal 5%) als die der ICA bzw. IOCCC Methode).

Bestimmung der Säurezahl

Die Berechnung der Säurezahl wurde entsprechend der Methode DGF C-V 2 (81) durchgeführt.

Bestimmung des Gehaltes an freien Fettsäuren

Der Gehalt an freien Fettsäuren wurde entsprechend der analytischen Methode 42 – 1993 reprint 1996 – früher Methode 120 – 1993 der ICA (früher IOCCC) durchgeführt. Die Ergebnisse sind auf der Basis von Ölsäure berechnet.

Bestimmung der freien Fettsäuren als Fettsäuremethylester

Die Fettsäuremethylester wurden entsprechend der Methode DGF C-VI 10a (00) und DGF C-VI 11d (98) bestimmt.

3.2.2.6 Bestimmung des Milch- und Essigsäuregehaltes

Die Milch- und Essigsäuregehalte wurden nach der Methode von TOMLINS *et al.* (1990) durchgeführt, wobei diese Methode um einen zusätzlichen Reinigungsschritt mit einer SPE-Anionenaustauschersäule erweitert wurde. Die Bestimmung von Milch- und Essigsäure erfolgte mittels Umkehrphasen-Hochleistungsflüssigkeits-Chromatographie (RP-HPLC) mit UV-Detektion.

Prinzip

Die Säuren wurden mit Benzoesäurelösung extrahiert. Ein aliquoter Teil wurde über eine Anionenaustauscher-Kartusche gereinigt.

Reagentien

Elutionspufferlösung: 16,1 mL Kaliumdihydrogenphosphat-Lösung ($\beta = 9,078 \text{ g L}^{-1}$) und 83,9 mL Dinatriumhydrogenphosphat-Lösung ($\beta = 11,876 \text{ g L}^{-1}$) wurden gemischt und der pH-Wert auf 7,5 eingestellt.

Extraktion

2,00 g der gemahlene Kotyledonen wurden in einen Stahlbecher der Kugelmühle (Typ MM200, Fa. Retsch) eingewogen und mit 10,0 mL Benzoesäure-Lösung ($\beta = 2 \text{ g L}^{-1}$) versetzt. Es wurde 10 min mit einer Frequenz von $F = 50 \text{ s}^{-1}$ extrahiert. Das Homogenat wurde in einer Zentrifuge (Laborfuge GL, Fa. Heraeus Christ) 10 min mit 5.000 rpm zentrifugiert, der Überstand dekantiert und erneut 10 min mit 13.000 rpm zentrifugiert. Das Zentrifugat wurde über einen Membranfilter (Multoclear® 25 mm; 0,45 μm ; Code: rot; Fa. CS-Chromatographie Service) gegeben und für die Reinigung über Anionenaustauscher-Kartuschen (quaternäres Amin, 3 mL Säulenvolumen, 500 mg Säulenfüllung, Bakerbond® Trennsäulen) eingesetzt.

Konditionierung der Anionenaustauscher-Kartuschen

5 mL Methanol wurden auf die Kartusche gegeben und innerhalb von 5 min eluiert, dann wurden 2 mL Wasser aufgegeben, langsam bis auf einen Rest eluiert und die Kartusche so 10 min mit dem Wasser konditioniert; dann wurde das Wasser eluiert bis der obere Flüssigkeitspegel gerade unterhalb der kleinen Fritte lag und das Eluat verworfen. Die Feinregulierung der Elutionsgeschwindigkeit erfolgte über eine Vakuum-Pumpe, die Vakuum-Einheit (Vakuum-Einheit mit Durchflusshahn, Baker-10 SPE System) für die Trennsäulen und dem Durchflusshahn.

Reinigung des Extraktes

1,0 mL des gewonnenen Extraktes wurde auf die vorbereitete konditionierte Kartusche gegeben und einziehen gelassen. Dabei wurde das Eluat in einem 5 mL Messkolben aufgefangen. Die Durchflussgeschwindigkeit überstieg $1\text{--}2\text{ mL min}^{-1}$ nicht. Es wurde mit ca. 3,7 mL Elutionspuffer-Lösung eluiert. Der Messkolben wurde mit Wasser zur Marke aufgefüllt und die Lösung für die HPLC-Bestimmung verwendet.

HPLC-Konditionen:

Vorsäule:	Micro-Guard Cation-H Cart. (30 mm x 4,6 mm; Fa. Bio-Rad)
Trennsäule:	Edelstahl mit Füllung für Umkehrphasen-Chromatographie, hier Kationenaustauscher Aminex HPX-87H (Länge 300 mm, Ø 7,8 mm)
Elutionsmittel:	Schwefelsäure, $c = 6,5\text{ mmol L}^{-1}$
Durchflussrate:	ca. $0,6\text{ mL min}^{-1}$
Arbeitstemperatur:	Raumtemperatur bzw. Säulentemperierung auf 25 °C
Aufgabevolumen:	20 μL
Probengeber:	Autosampler 717plus, Fa. Waters
Detektion:	UV-VIS-Detektor L-7420, Merck Hitachi; $\lambda = 215\text{ nm}$
Pumpe:	HPLC Pumpe 64; Fa. Knauer; 20- μL -Aufgabenventil (Schleife mL zu Probengeber)
Degaser:	Degasex DG-4400, Fa. Phenomenex

Berechnung: Durch Vergleich der Peakflächen bzw. Peakhöhen von Proben- und Standard-einspritzungen unter Berücksichtigung der Konzentration wurde der Gehalt an Milchsäure und Essigsäure berechnet. Es hat sich bei der hier vorliegenden Matrix gezeigt, dass es richtiger ist, die Milchsäure über die Peakfläche und die geringer konzentriert vorliegende Essigsäure über die Peakhöhe auszuwerten.

Kalibrierung: Lithiumlactat und Natriumacetat wurden im Trockenschrank bei 110 °C getrocknet. Aliquote der Stammlösungen (Lithiumlactat-Stammlösung: $w = 1,0779\text{ mg } 100\text{ mL}^{-1}$; dies entspricht $1,000\text{ g Milchsäure } 100\text{ mL}^{-1}$; Natriumacetat-Stammlösung: $w = 13,892\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$; dies entspricht $10,00\text{ mg Essigsäure mL}^{-1}$) wurden in einem Messkolben vermischt und herunter verdünnt in den Konzentrationsbereich der Analyten. Die Kalibrierlösungen für die HPLC-Bestimmungen enthielten ca. $300\text{ }\mu\text{g}$ bis $1.200\text{ }\mu\text{g}$ Milch- und Essigsäure-Equivalente pro mL.

3.2.2.7 Bestimmung der Methylxanthine (Theobromin und Coffein)

Die Bestimmung der Methylxanthine Theobromin und Coffein erfolgte leicht verändert nach der Vorschrift L-18.00-16 „Bestimmung von Theobromin und Coffein in feinen Backwaren“ "Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG". Für die Bestimmung wurde eine RP-HPLC Anlage mit UV-Detektion verwendet.

Probenvorbereitung

0,500 g des entfetteten Materials (Kapitel 3.2.2.2 oder 3.2.2.5) wurden in einen 200 mL Messkolben eingewogen, mit 160 mL kochendem Wasser versetzt und 30 min bei gelegentlichem Rühren stehengelassen. Anschließend wurde auf 20°C abgekühlt und unter Verwendung von 1 mL Carrez I –Lösung ($K_4[Fe(CN)_6] \times 3 H_2O$; $\beta = 150 \text{ g L}^{-1}$) und 1 mL Carrez II-Lösung ($ZnSO_4 \times 7 H_2O$; $\beta = 300 \text{ g L}^{-1}$) geklärt, mit Wasser auf die Marke aufgefüllt und umgeschüttelt. Die Lösung wurde durch weiche Faltenfilter (Nr. 595 ½, Fa. Schleicher & Schuell) filtriert und 3 mL des Filtrates mit 25 mL destilliertem Wasser nachverdünnt. Zur weiteren Reinigung für die Analyse über die HPLC-Anlage wurde die Lösung durch ein 0,45 µm Einmalfilter (Multoclear® 25 mm; 0,45 µm; Code: rot; Fa. CS-Chromatographie Service) filtriert.

HPLC-Konditionen:

Trennsäule:	Lichrosphere 60 RP select B 5 µm; 250 mm x 4 mm
Elutionslösung:	Acetonitril / Methanol / 0,02 mol L ⁻¹ Phosphat-Puffer pH-Wert 4; 7+3+90 (v/v/v)
Durchflussrate:	0,8 – 1,4 mL min ⁻¹
Aufgabevolumen:	20 µL
Arbeitstemperatur:	Säulentemperatur: 30°C / 35°C bei isokratischer Messung
Detektion:	$\lambda = 274 \text{ nm}$
Pumpe:	Knauer HPLC Pumpe 64; 20-µL-Aufgabenventil (Schleife)
Probengeber:	Model 717 Plus, Fa. Waters
Degaser:	Degassex DG-4400, Fa. Phenomenex
Quantifizierung:	über die Peakfläche

3.2.2.8 Bestimmung des Kjeldahl-Stickstoffgehaltes

Der Kjeldahl-Stickstoffgehalt wurde nach der offiziellen Methode zur Bestimmung von Rohprotein, EG 1993 Volume III; Methoden Nr. 4.1.1 VDLUFA (Kjeldahl-Methode) durchgeführt. Folgend wird dieser Wert als Stickstoffgehalt bezeichnet.

3.2.2.9 Berechnung des Rohproteingehaltes

Die Berechnung des Rohproteingehaltes erfolgte nach der folgenden Formel: Rohproteingehalt = (Kjeldahl-Stickstoffgehalt – Gehalt an Stickstoff aus Theobromin und Coffein) x 6,25. Der Wert 6,25 entspricht dem für die Berechnung des Rohproteingehaltes von Samen üblicherweise verwendeten Faktor.

3.2.2.10 Bestimmung der Gehalte an freien Aminosäuren

Die Bestimmung der Gehalte an freien Aminosäuren wurde leicht verändert nach der Methode von KIRCHHOFF *et al.* (1989) durchgeführt. Die freien Aminosäuren wurden, nach einer Vorsäulen-Derivatisierung in ihre entsprechenden *o*-Phthaldialdehyd-Derivate (OPA-Derivate) überführt und mithilfe einer RP-HPLC Anlage analysiert.

Probenvorbereitung

0,500 g entfettetes Material (Kapitel 3.2.2.2 oder 3.2.2.5) wurden mit 1,4 g Polyvinylpyrrolidon (PVPP) und 50 mL destilliertem Wasser bei $< 4^{\circ}\text{C}$ eine Stunde gerührt. Direkt nach Zugabe des Wassers wurde der pH-Wert auf 2,5 mit 50%iger wässriger Trifluoressigsäurelösung eingestellt. Die Lösung wurde anschließend für 10 min bei 5.000 rpm zentrifugiert und der klare Überstand durch einen $0,45\ \mu\text{m}$ Filter (Multoclear® 25 mm; $0,45\ \mu\text{m}$; Fa. CS-Chromatographie Service) filtriert. Von dem Filtrat wurden 30 μL direkt im später für den Autosampler zu benutzenden Probengefäß lyophilisiert (1 Stunde; -20°C , 0,05 mbar) und anschließend bei -20°C gelagert.

HPLC-Konditionen:

Vorsäule:	Lichrosphere 100 RP-18 ($5\ \mu\text{m}$)
Trennsäule:	LiChroCART 250-4 (Fa. Merck)
Säulentemperatur:	30°C
Aufgabevolumen:	20 μL
Eluentenlösungen:	A: 1,6 L Natriumacetatlösung ($50\ \text{mmol L}^{-1}$; pH 6,2), 50 mL Methanol (Lichrosolv®, gradient grade), 20 mL Tetrahydrofuran (Lichrosolv®, gradient grade). B: 200 mL Natriumacetatlösung/Eisessig ($50\ \text{mmol l}^{-1}$; pH 6,2), 800 mL Methanol (Lichrosolv®, gradient grade)
Durchflußrate:	$1,3\ \text{mL min}^{-1}$
Equilibrierung:	Die Säule wurde mit Eluent A equilibriert.
Gradient:	(A + B = 100% v/v): (1) 2 min 100-95% A, (2) 10 min 95-85% A, (3) 8 min 85-60% A, (4) 5 min 60-50% A, (5) 15 min 50-0% A, (6) 10 min konstant 0% A, (7) 5 min 0-100% A, (8) 20 min konstant 100% A
Detektion:	F-1050 Fluorescence Spectrophotometer; Fa. Hitachi ($\lambda_{\text{ex}} = 334\ \text{nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 425\ \text{nm}$);
Probengeber:	AS-4000, Fa. Merck-Hitachi
Degaser:	Degassex DG-4400, Fa. Phenomenex

Durchführung:

Für die HPLC Messung wurden 800 μL Boratpuffer ($c = 200\ \text{mmol L}^{-1}$ Borsäure; vor dem Versuch mit konzentrierter KOH auf pH 9,5 eingestellt und 5 min gekocht) auf die lyophilisierten Proben gegeben. Die Standardlösungen wurden mit $1\text{-}10\ \text{pmol } \mu\text{L}^{-1}$ je Aminosäure ebenfalls mit Boratpuffer angesetzt. Vor der jeweiligen Injektion wurden mithilfe des Autosamplers 400 μL OPA-Reagenz zu den Proben bzw. den Standardlösungen zugefügt.

Herstellung des OPA-Reagenzes: 100 mg *o*-Phthaldialdehyd (Nr. 11452, Fa. Merck) wurden in 2,5 mL Methanol (Lichrosolv[®], gradient grade) gelöst und mit 22,4 mL Boratpuffer (pH 9,5) sowie 100 µL 2-Mercaptoethanol (Nr. 15433, Fa. Merck) versetzt. Das OPA-Reagenz wurde mindestens 24 Stunden vor Gebrauch hergestellt.

Exakt 2 min nach der Mischung der Probe mit 400 µL OPA-Reagenz wurde die Derivatisierung durch die Injektion auf die Säule gestoppt.

Quantifizierung:

Durch Vergleich der Peakflächen von Proben- und Standardchromatogrammen unter Berücksichtigung der Verdünnung wurde der Gehalt der freien Aminosäuren berechnet. Die Standardlösungen enthielten Konzentrationen von 1-10 pmol µL⁻¹ je Aminosäure. Die Standardabweichungen der Peakflächen der Referenzsubstanzen lagen bei ± 2,0% außer für Glutaminsäure, Glutamin, Alanin, Tryptophan (± 2,9-3,8%); Arginin, Asparagin, Threonin und Serin (± 5,7-7,3%); Glycin (± 9,2%) und Lysin (± 9,6%).

Der Gehalt der nichtproteinogenen Aminosäure γ -Aminobuttersäure (GABA) wurde in allen Proben außer denen des Cocoa Atlases bestimmt (im Ergebnisteil als GABA-Gehalt bezeichnet). Zu dem Zeitpunkt als die Proben des Cocoa Atlases vermessen wurden, lag noch kein GABA-Standard vor. Um die relativen Gehalte an GABA in den Proben des Cocoa Atlases darzustellen, wurde der Flächenanteil des GABA-Peaks jedes Chromatogramms aus der Summe aller detektierten FAA-Peakflächen errechnet. Dieser Wert wird im Ergebnisteil als GABA-Wert bzw. als γ -Aminobuttersäure Anteil der HPLC-Fläche bezeichnet.

Für die Berechnungen der Gehalte an freien Aminosäuren bezogen auf die fettfreie Trockenmasse (ffTM) wurden der Wassergehalt des entfetteten Materials entsprechend der in Kapitel 3.2.2.3 beschriebenen Methode und der nach Kapitel 3.2.2.5 bestimmte Fettgehalt zugrunde gelegt.

Für die Analyse der freien Aminosäuren wurden nur die in der Tab. 3 markierten Proben verwendet.

3.2.2.11 Bestimmung phenolischer Substanzen

Die Bestimmung der phenolischen Substanzen (-)-Epicatechin, Catechin und Anthocyane Cyanidin-3-arabinosid und Cyanidin-3-galacotsid) erfolgte über eine RP-HPLC-Anlage, die Detektion über einen Photodioden-Array Detektor (PDA).

Probenvorbereitung der Handelsproben aus Kapitel 3.1.2:

0,500 g entfettetes Material (Kapitel 3.2.2.5) wurden in ein 100 mL-Zentrifugenröhrchen gewogen. Jede Probe wurde dreimal mit einer Aceton/ H₂O-Mischung 60+40 (v/v) extrahiert. Während der Extraktion wurde gerührt. Nach jeder Extraktion wurden die Proben 3 min in einem Ultraschallbad behandelt und anschließend 10 min bei 5.000 rpm zentrifugiert. Nach

der Zentrifugation wurde der Überstand in einem 250 mL Rundkolben, in dem 2,5 mL Eisessig zur Verhinderung von Oxidationsprozessen vorgelegt waren, überführt. Über Rotationsverdampfung bei 40°C und 80 mbar wurde das Aceton vollständig abgedampft. Die Extraktionsrückstände wurden mit destilliertem Wasser in einen 100 mL Messkolben überführt und auf 100 mL aufgefüllt. Für die weiteren Analysen wurde die Probenlösung in einem PVC-Gefäß bei -20°C eingefroren.

30 mL der Probenlösung wurden mit 30 mL Ethylacetat (Fa. Riedel-de Haen) in einem Scheidetrichter extrahiert. Über Wiederfindungstests mit Standardsubstanzen (Tab. 6), wurde nachgewiesen, dass die so vorliegende organische Phase alle gesuchten phenolischen Substanzen außer den Anthocyanen enthielt. Nach fünf Wiederholungen wurden die vereinigten Extrakte durch Verwendung von 20 g wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und anschließend über Faltenfilter (Nr. 595 ½, Fa. Schleicher & Schuell) filtriert. Das Filtrat wurde fast bis zur Trockne in einem Rotationsverdampfer aufkonzentriert und mit Ethylacetat quantitativ in einen Messkolben überführt. Abschließend wurde die Lösung wiederum in einem Rotationsverdampfer konzentriert und die Essigsäurereste mit Stickstoff verblasen. Die Rückstände wurden in 1 mL Methanol gelöst und mit 4 mL 2,5%iger Essigsäure (Lichrosolv[®], gradient grade) verdünnt. Diese Lösung wird folgend als Roh-Polyphenol-Extrakt benannt.

Dieser Extrakt wurde zur Analyse der monomeren phenolischen Substanzen mittels einer RP-HPLC-Anlage mit PDA- und Fluoreszenzdetektion verwendet.

Probenvorbereitung der Proben aus Kapitel 3.1.4 (Stadienspezifische Untersuchungen) und 3.1.6 (Samenmaterial aus Trinidad und Tobago für die Inkubationsversuche):

Für diese Proben wurde ein verändertes Probenaufreinigung- und Extraktionsverfahren angewendet, das die Verwendung auch minimaler Probenmengen ermöglichte („methanolische Mikroextraktion“).

Einwaage: 50 mg des entfetteten Kakaopulvers (Kapitel 3.1.4.2) wurden in ein Zentrifugenglas (16 mm*100 mm) eingewogen und zusammen mit 3 mL Methanol p. a. für 20-30 Sekunden am Ultra-Turrax[®] T25-Rührer extrahiert. Der Ultra-Turrax[®] wurde anschließend mit 2 mL Methanol in das Zentrifugenglas abgespült und die extrahierte Probe 15 min im Eisbad stehen gelassen. Die Probe wurde bei 5.000 rpm für 10 min zentrifugiert (Laborfuge GL, Fa. Heraeus Christ). Der klare methanolische Überstand wurde in einen 50 mL Spitzkolben dekantiert.

Dieser Extraktionsvorgang wurde für jede Probe dreimal wiederholt, dann mit jeweils nur zweiminütiger Ruhephase im Eisbad.

Die vereinigten Methanolextrakte wurden am Rotationsverdampfer (LABO Rota SE 320, Fa. Resma Technics) bei 40°C und 100 mbar bis zur Trockne eingeeengt, in 1,5 mL Methanol (Lichrosolv[®]) gelöst und abschließend durch einen 0,45 µm Spritzenfilter (PTFE Multoclear[®], Fa. CS-Chromatographie Service) in ein HPLC-Vial filtriert, luftdicht verschlossen und bis zur Analytik bei -20°C eingefroren.

Reagentien

Elutionslösungen: A: Essigsäurelösung w = 2%
 B: Acetonitril/H₂O Lichrosolv[®]/Eisessig, 400+90+10 (v/v/v)

Gradient:

Zeit [min]	Flußrate [mL min ⁻¹]	Elutionslösung	
		[%] A	[%] B
0	1,2	90	10
8	1,2	90	10
38	1,1	77	23
50	1,0	60	40
70	1,0	10	90
73	1,0	10	90
78	1,2	90	10
93	1,2	90	10

HPLC- Konditionen:

Trennsäule: Novapac C18 (30 cm, Ø 3,9 mm, endcapped, Fa. Waters)
 Aufgabevolumen: 20 µL
 Temperatur: Säulentemperatur 26°C
 Detektion: PDA-Detektor (Fa. Waters Millipore 996; Spektrum 230-540 nm, wobei (-)-Epicatechin, Catechin bei λ = 280 nm und die Anthocyane Cyanidin-3-arabinosid und Cyanidin-3-galacotsid bei λ = 530nm quantifiziert wurden)
 Pumpe: Model 64 Fa. Knauer; Gradientensteuerung Knauer Programmer Model 50
 Probengeber: AS-4000, Fa. Merck-Hitachi
 Quantifizierung: Peakfläche; Probe gegen Standardlösung

Die Identifizierung und Quantifizierung der phenolischen Substanzen erfolgte über kommerziell erwerbbar Standardsubstanzen, die während der Etablierung der Methode als interne, später als externe Standards eingesetzt wurden. Die eingesetzten Standards stellen nur solche phenolischen Substanzen dar, die bereits für *T. cacao* Samen bekannt waren (JARDINE 1999; ZIEGLER & BIEHL 1988). Sofern käuflich erwerbbar, wurden die in Tab. 6 aufgeführten phenolischen Substanzen als Standards eingesetzt und die HPLC-Methode so optimiert, dass diese gut getrennt wurden. Von den untersuchten Standards wurden in den Proben nur (-)-Epicatechin, Catechin die Anthocyane Cyanidin-3-arabinosid und Cyanidin-3-galacotsid in den Proben detektiert.

Tab. 6 Liste der nach JARDINE (1999) und ZIEGLER und BIEHL (1988) in *T. cacao* Samen vorkommenden und in dieser Untersuchung als Standard verwendeten phenolischen Substanzen

phenolische Substanz	als Standard benutzt	Firma
Esculetin	ja	Aldrich
Catechin	ja	Fluka
Chlorogensäure	ja	Aldrich
Clovamid	nein	
Cyanidin-3-arabinosid	ja	Polyphenols AS
Cyanidin-3-galactosid	ja	Polyphenols AS
p-Cumarsäure	ja	Merck
Deoxyclovamid	nein	
3,4-Dihydroxyzimtsäure	ja	Merck
Epicatechin	ja	Sigma
Epigallocatechin	ja	Sigma
Ferulasäure	ja	Merck
Gallocatechol	ja	Sigma
p-Hydroxybenzoesäure	ja	Merck
o-Hydroxy-phenyllessigsäure	ja	Merck
p-Hydroxy-phenyllessigsäure	ja	Merck
Neochlorogensäure	nein	
Phenyllessigsäure	ja	Merck
Phloretinic acid	ja	Merck
Phloroglucinol	ja	Aldrich
Proanthocyanidine (Oligomere und Polymere der Catechine)	nein	
Protocatechinsäure	ja	Aldrich
Quercetin	ja	Sigma
Quercetin-3-galactosid	ja	Fluka
Quercetin-3-glucosid	nein	
Syringasäure	ja	Merck
Vanillinsäure	ja	Aldrich

3.2.2.12 Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes nach der Folin-Ciocalteu-Methode

Der Gesamtgehalt an phenolischen Substanzen (folgend auch als Gesamtphenolgehalt bezeichnet) wurde mit der Folin-Ciocalteu-Methode bestimmt. Diese Methode basiert auf Redoxreaktionen, die vor allem, aber nicht nur, von phenolischen Substanzen hervorgerufen werden. So können auch aromatische Amine, Kohlenhydrate und Produkte der Maillardreaktion interferieren (ROHR, 1999). Da auch das Redoxpotenzial der verschiedenen möglichen Standardsubstanzen unterschiedlich ist, ist ein Vergleich mit Studien, die mit anderen Standards oder Proben mit differierenden Matrices gearbeitet haben, nur eingeschränkt möglich. Dennoch wurde diese einfach durchzuführende Methode ausgewählt, da sie a) als Ergänzung zur RP-HPLC-Methode, bei der lediglich Epicatechin und Catechin quantitativ bestimmt wurden, dient und b) in dieser Studie die Proben nur untereinander verglichen werden.

Zur Bestimmung des Gesamtgehaltes an phenolischen Substanzen wurde das Folin-Ciocalteu-Reagenz verwendet.

Hierfür wurde 1 mL des Roh-Polyphenol-Extraktes (Kapitel 3.2.2.11) mit 2,5%iger Essigsäure auf 1/10 (v/v) verdünnt. Von diesem so verdünnten Roh-Polyphenol-Extrakt wurde 1 mL in ein auf 10 mL kalibriertes Glasgefäß gegeben und mit 0,5 mL Folin-Ciocalteu-Reagenz versetzt. Nach Addition von 2 mL einer 20%igen Na₂CO₃-Lösung wurde auf die 10 mL Marke mit destilliertem Wasser aufgefüllt. In einem Wasserbad wurde 10 min bei 70°C inkubiert und folgend auf Zimmertemperatur abgekühlt. Nach dieser Prozedur ist der vom Polyphenolgehalt abhängige blaue Farbkomplex für einige Stunden stabil. Die Proben wurden bei $\lambda = 730$ nm am Photometer gegen den Reagenzienblindwert gemessen. Der Polyphenolgehalt wurde in Epicatechin-Äquivalenten angegeben (Referenzsubstanz).

3.2.2.13 Bestimmung des Antioxidativen Potenzials

Das Antioxidative Potenzial wurde nach der TEAC Methode (= Trolox® Equivalent Antioxidative Capacity) ermittelt. Diese Methode basiert auf einem von MILLER *et al.* (1993) entwickelten „in vitro“-Test, welcher ABTS (2,2-Azino-di[3-ethyl-benzothiazolin-(6)-sulfonate]) verwendet. Wird zu dieser Substanz Wasserstoffperoxid zugefügt, entsteht unter der Katalyse von Metmyoglobin in zeitlich proportionalem Anstieg ein Farbstoff, welcher ein Extinktionsmaximum bei $\lambda = 743$ nm aufweist. Diese Reaktion ist zeitlich limitiert. Antioxidative Substanzen, wie phenolische Substanzen, verzögern eine Radikalbildung, hohe Radikalkonzentration und damit auch die Farbbildung. Als Standardsubstanz wurde Trolox®, ein wasserlösliches Tocopherolderivat, eingesetzt. Es verursacht eine Verzögerung der Radikalbildung. Die durch die antioxidativ wirkenden Substanzen von 10 mg entfetteten Materials (Kapitel 3.2.2.5) verursachte Verzögerung der Farbstoffbildung wurde mit der Konzentration an Trolox® korreliert, die unter gleichen Bedingungen, eine gleich lange Verzögerung hervorrief. Das Antioxidative Potenzial der Proben wurde als $\mu\text{mol L}^{-1}$ Trolox® Äquivalente (100 mg g⁻¹ ffTM)⁻¹ angegeben.

Probenvorbereitung

10 mg des entfetteten Materials (Kapitel 3.2.2.5) wurden in ein 2 mL Gefäß mit einem Aceton/Methanol/Phosphatpuffer-Gemisch (c = 5 mmol, pH 7,4) 6+2+2 (v/v/v), suspendiert und für 15 min bei 14.000 rpm vermischt. Anschließend wurde die Mischung bei 13.000 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde für den Test verwendet. Um die Ergebnisse mit anderen Studien vergleichen zu können, wurden gleiche Volumenverhältnisse wie bei LIEBERT *et al.* (1999) verwendet: 10 μL der Lösung wurden in eine Einmalküvette mit bereits vorgelegten 600 μL ABTS-Lösung (c = 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$) pipettiert und 1 mL der Phosphat-Pufferlösung wurden addiert. Die Reaktion wurde mit Zugabe von 30 μL einer 2%igen H₂O₂-Lösung gestartet, die Extinktion wurde bei $\lambda = 734$ nm registriert.

3.2.2.14 Aktivitätsmessung der Aspartylendoprotease

Die Messung der Aspartylendoprotease-Aktivität erfolgte leicht verändert nach der Methode wie sie von REISDORFF *et al.* (2004) beschrieben wurde.

Enzymextraktion

Die Extraktion des Enzyms fand bei 2-4°C statt. Dafür wurden 20,00 mg fTM Rohkakao (Probenvorbereitung siehe Kapitel 3.2.2.2 oder 3.2.2.5) in ein 1,5 mL fassendes Eppendorfgefäß eingewogen und mit 1,0 mL Natriumboratpuffer ($c = 200 \text{ mmol L}^{-1}$; mit HCl auf pH 9 eingestellt) versetzt. Die Mischung wurde mit einem Pellet-Mixer (Pellet Pestle Motor, Fa. Kontes) homogenisiert und anschließend im Schüttler (Thermomixer Comfort, Fa. Eppendorf) bei 12.000 rpm für eine Stunde bei 4°C extrahiert. Die Proben wurden anschließend 30 min bei 13.000 rpm zentrifugiert (Biofuge Fresco, Fa. Heraeus Christ) und der Überstand für die Enzymmessung verwendet.

Aktivitätsmessung

Die Aspartylendoprotease-Aktivität (EC 3.4.23) wurde als Pepstatin A sensitive Aktivität gemessen. Hierfür wurden 100 μL des Enzymextraktes mit 100 μL Pepstatin A-Lösung ($\beta = 200 \text{ mg L}^{-1}$) versetzt und 10 min bei 35°C vorinkubiert. Die Proteolyse wurde durch Zugabe von 800 μL BSA-Lösung ($\beta = 6,25 \text{ mg mL}^{-1}$) in McIlvaine Puffer (Na_2HPO_4 , $\beta = 35,598 \text{ g L}^{-1}$, $c = 200 \text{ mmol L}^{-1}$ und Zitronensäure ($\beta = 21,014 \text{ g L}^{-1}$, $c = 100 \text{ mmol L}^{-1}$, pH 3) gestartet. Die Inkubation wurde bei 42°C für 2 Stunden durchgeführt und mit der Zugabe von 200 μL eiskalter Trichloressigsäure-Lösung ($\beta = 250 \text{ g L}^{-1}$) gestoppt. Nach anschließender Zentrifugation (30 min bei 13.000 rpm) wurden die Trichloressigsäure löslichen Produkte der Proteolyse mittels TNBS-Messung quantifiziert.

TNBS-Messung

Die Aktivität der Aspartylendoprotease wurde über die Quantifizierung der freigesetzten α -Aminogruppen über die Methode nach Shutov *et al.* (1982) unter Verwendung von Trinitrobenzonsulfonsäure (TNBS) gemessen. Da die Bildung der gefärbten Sulfonamide aus den freien α -Aminogruppen und TNBS nur in einem engen pH-Bereich von 8,8-9,3 stabil sind, wurden 150 μL des TCA-löslichen Überstandes mit 600 μL Boratpuffer ($\beta = 40 \text{ g L}^{-1}$, pH 9,75) versetzt. Die Farbreaktion wurde durch Zusatz von 100 μL TNBS-Lösung ($\beta = 3 \text{ g L}^{-1}$) gestartet. Die Reaktion wurde bei 30°C im Schüttelwasserbad (Typ 3047, Fa. Kötterman) durchgeführt. Anschließend wurde sie durch die Zugabe von 1,6 mL HCl ($c = 1 \text{ mol L}^{-1}$) gestoppt. Mit Hilfe eines Photometers (Ultraspec 3000 UV, Fa. Amersham Pharmacia Biotech) wurde die Absorption der Lösung bei einer Wellenlänge von $\lambda = 340 \text{ nm}$ gemessen. Für die Quantifizierung der α -Aminogruppen wurde eine Leucin-Eichreihe mit Konzentrationen zwischen 0,078 und 2,5 mmol L^{-1} hergestellt und parallel zu den Proben vermessen.

3.2.2.15 Aktivitätsmessung der Polyphenoloxidase

Die Messung der Polyphenoloxidase-Aktivität (PPO-Aktivität) erfolgte mittelbar über den Sauerstoffverbrauch, da die PPO bei der Oxidation von *o*-Diphenolen zu *o*-Chinonen Sauerstoff umsetzt. Der Sauerstoffverbrauch wurde mit der Sauerstoffelektrode (Clark Elektrode YSI 5331, Messkammer 5301, Monitor YSI Model 53 Biological Oxygenmonitor; Fa. Yellow Springs Instruments; Ohio 45387 USA) detektiert. Dabei wird der Sauerstoff durch eine an einem Clark-Elektrodensystem angelegte Gleichspannung unter Elektronenverbrauch reduziert. Die Stärke des so entstandenen Stromflusses ist dem Sauerstoffpartialdruck direkt proportional (RICHTER, 1998). Entsprechend kann der Sauerstoffverbrauch über die Verstärkung des elektrischen Signals mit Hilfe eines Flachbettschreibers (hier: Model BD 112, Fa. Kipp & Zonen) dokumentiert werden.

Nach MEYER (1975) sind in 3 mL sauerstoffgesättigtem Sörensen-Puffer bei einer Temperatur von 25°C 0,67µmol Sauerstoff gelöst.

Die Sauerstoffelektrode wurde vor jedem Messgang auf 100% Sauerstoffsättigung mit 3 mL luftgesättigtem Sörensen-Puffer kalibriert.

4-Methylcatechol diente als Standardsubstrat. Da es bei pH 6,4 auch chemisch unter Sauerstoffverbrauch oxidiert, wurde vor jeder Messreihe die Autoxidation des 4-Methylcatechols bestimmt und von den später gemessenen Messwerten subtrahiert. Für die Messung der Autoxidation wurden 2,9 mL Sörensen-Puffer und 100 µL 4-Methylcatechol-Lösung ($\beta = 28 \text{ mg mL}^{-1}$, $c = 225 \text{ mmol L}^{-1}$) verwendet.

Die Messung des Sauerstoffverbrauches wurde bei 25°C durchgeführt. Dafür wurden insgesamt 3 mL Messlösung in die Messküvette pipettiert. Diese setzten sich aus 100 µL 4-Methylcatechol-Lösung ($\beta = 28 \text{ mg mL}^{-1}$, $c = 225 \text{ mmol L}^{-1}$), dem Enzymextrakt (meist 100-300 µL) und der entsprechenden Differenzmenge temperierter, luftgesättigter Sörensen-Pufferlösung zusammen. Für die Messung wurde die entsprechende Menge Sörensen-Puffer mit dem Enzymextrakt 3 min gerührt und durch Zugabe der vortemperierten Substratlösung gestartet. Der Sauerstoffverbrauch wurde mindestens über 6 min mit dem Flachbettschreiber dokumentiert.

Über die graphische Auswertung der aufgezeichneten O₂-Verbrauchskurven wurde die Aktivität der PPO berechnet. Dafür wurde eine Tangente an der Stelle an die O₂-Verbrauchskurve angelegt, die 1,5 min Reaktionszeit entspricht (bei einer Schreibgeschwindigkeit von 2 cm min⁻¹, entsprechend 3 cm nach dem Reaktionsstart). An dieser Tangente wurde die Sauerstoffabnahme in Prozent nach 6 Minuten abgelesen. Im Küvettenraum hat sich zu diesem Zeitpunkt ein Gleichgewicht zwischen der Sauerstoffdiffusion zur Elektrode und dem Sauerstoffverbrauch durch die Substratoxidation eingestellt. Gleichzeitig ist aber die Aktivität der PPO noch nicht durch die Gerbungsprozesse der entstehenden Chinone herabgesetzt. Der Sauerstoffverbrauch von 1% pro Stunde entspricht unter den beschriebenen Bedingungen einer Enzymaktivität vom 6,7 nmol O₂ pro Stunde (MEYER, 1975).

Herstellung der Enzymextrakte

Für die Bestimmung der Polyphenoloxidase-Aktivität wurden 20,00 mg g⁻¹ ffTM der entfetteten Proben (Kapitel 3.2.2.2 oder 3.2.2.5) in ein 2 mL Eppendorfgefäß, in dem 20,00mg g⁻¹ ffTM PVPP (Fa. Fluka) vorlagen, eingewogen. Dazu wurde 1 mL Sörensen-Puffer pipetiert. Die Extraktion wurde bei 4°C für eine Stunde unter Schütteln durchgeführt. Anschließend wurde je nach zu erwartender Aktivität 1:10 verdünnt. Die Suspension diente als Enzymextrakt.

Sörensen-Puffer

KH₂PO₄-Lösung, $\beta = 9,078 \text{ g L}^{-1}$; $c = 67 \text{ mmol L}^{-1}$

Na₂HPO₄-Lösung, $\beta = 11,876 \text{ g L}^{-1}$; $c = 67 \text{ mmol L}^{-1}$

Dabei wurde die KH₂PO₄-Lösung vorgelegt und mit der Na₂HPO₄-Lösung auf pH 6,4 eingestellt.

3.2.3 Versuchsdesign der Inkubationsversuche

3.2.3.1 Versuchsdesign

Die Inkubationen erfolgten unter sterilen Bedingungen. Dafür wurden die Kakaofrüchte zunächst mehrfach mit Seifenwasser und anschließend mit Sterilium gewaschen. Bevor die Früchte unter sterilen Bedingungen in der reinen Werkbank geöffnet wurden, erfolgte ein kurzes Abbrennen der Oberfläche mit Ethanol. Für die Inkubation wurden die Samen unter sterilen Bedingungen aus den Früchten entnommen und in 250 mL Duranglasflaschen überführt.

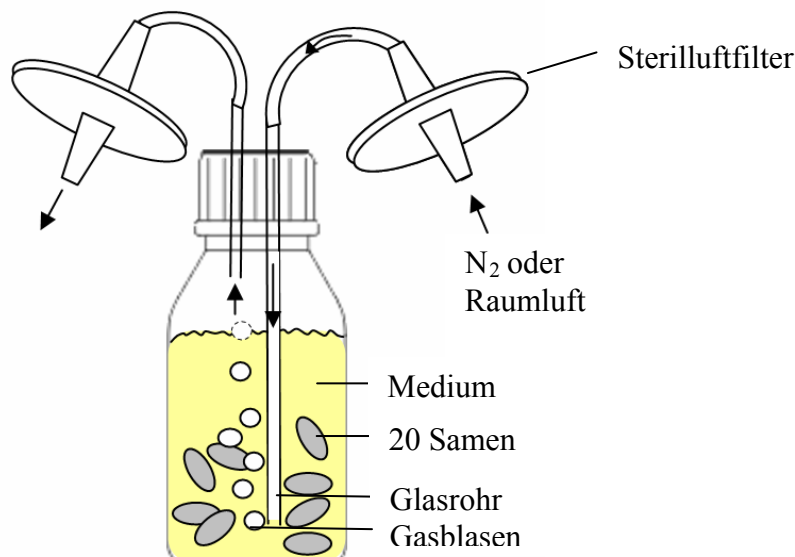


Abb. 18 Schematische Darstellung eines befüllten Inkubationsgefäßes

Die Inkubation erfolgte die ersten 48 Stunden unter Stickstoffbegasung, die übrige Zeit strömte Raumluft in die Gefäße. Dafür wurden durch die Deckel der Duranglasflaschen zwei Öffnungen gebohrt, durch die Silikonschläuche geführt wurden. Im Inneren der Gefäße waren als Verlängerung der Silikonschläuche zwei unterschiedlich lange Glasrohre (0,5 cm Ø)

befestigt (Abb. 18). Durch das erste, längere Rohr strömte die Gasphase in das Gefäß. Dieses Rohr reichte bis kurz vor den Boden des Gefäßes. Das zweite war wesentlich kürzer, so dass es auch in befülltem Zustand des Gefäßes nicht mit dem Inkubationsmedium in Berührung kam. Hierdurch wurde der permanente Gasstrom wieder nach außen abgeführt. Von außen war an den Silikonschläuchen jeweils ein Sterilluftfilter (Midisart 2000; 0,2 µm PTFE; Fa. Sartorius) angebracht.

Durch die Begasung mit Stickstoff und anschließende Belüftung wurden fermentationsähnliche Bedingungen (1-2 Tage weitgehende Anaerobie, nachfolgend Sauerstoffeintrag) simuliert. Sie diente außerdem der Durchmischung der Inkubationslösung.

Pro Inkubationsversuch wurden je 5 solcher Flaschen präpariert und vor Versuchsbeginn im Autoklaven sterilisiert (121°C, 20 min, 1,1 bar).

Für die Versuche wurden je 20 Samen mit steril gefilterter Inkubationslösung (100 mL Essigsäurelösung, $c = 200 \text{ mmol L}^{-1}$, pH 4,5) in die vorbereiteten Duranglasflaschen gefüllt und nach dem in Tab. 7 dargestellten Schema inkubiert.

Tab. 7 Versuchsbedingungen der fermentationsähnlichen Inkubationen

Dauer [Stunden]	0-24	24-48	48-120
Temperatur [°C]	30	40	50
pH-Wert des Mediums (200 mmol L ⁻¹ Essigsäurelösung)	4,5		5,5
Begasung/ Belüftung	Stickstoff		Raumluft

Genotyp

IMC 67	Versuch A Versuch C*	mit Testa (+T)
GU 277G T4	Versuch E*	
IMC 67	Versuch B Versuch D*	ohne Testa (-T)
GU 277G T4	Versuch F*	

* Während des Transportes erlitten einige der gelieferten Früchte Temperaturschäden.

Pro Tag wurde eine Flasche geöffnet und beprobt. Nach 48 Stunden Inkubation wurde in den verbleibenden Proben das alte Medium (100 mL pro Gefäß, $c = 200 \text{ mmol L}^{-1}$ Essigsäure mit einem ursprünglichen pH von 4,5) verworfen und durch neues Medium (100 mL pro Gefäß, $c = 200 \text{ mmol L}^{-1}$ Essigsäure, pH 5,5) ersetzt.

Inkubationsmedium

Essigsäurelösung: $c = 200 \text{ mmol L}^{-1}$, pH-Wert 4,5 und 5,5 (mit NaOH eingestellt)

3.2.3.2 Prüfung auf Sterilität der Inkubationsmedien nach Inkubation

Von jedem Gefäß wurde nach erfolgter Inkubation die Sterilität der Inkubationsmedien überprüft. Hierfür wurden je zwei mal 5 mL der Inkubationsmedien auf 2 mit LB-Medium

(Bertani, 1951) und 2 mit PDA-Medium (Sigma Cell Culture, Fa. Sigma) ausgestrichenen Petrischalen ausgebracht. Diese wurden 7 Tage im Brutschrank bei 35°C inkubiert und täglich auf Bakterien-, bzw. Pilzwachstum kontrolliert.

LB-Medium:

Bacto-Trypton	10,0 g
Hefeextrakt	5,0 g
NaCl	10,0 g
Bacto-Agar	10,0 g
H ₂ O, dest.	ad 1.000 mL

Die Festmedien wurden mit NaOH auf pH-Wert 7,4 eingestellt, autoklaviert (20 min bei 121°C, 1,1 bar) und in sterile Petrischalen gefüllt.

Potato-Dextrose-Medium

Potato-Dextrose-Medium (PDA-Medium, Sigma Cell Culture, Fa. Sigma). Das Festmedium wurde nach Anleitung ($\beta = 39,00 \text{ g L}^{-1}$) angerührt, autoklaviert (20 min bei 121°C, 1,1 bar) und in sterile Petrischalen gefüllt.

3.2.3.3 Kontrolle der Keimfähigkeit

Um zu überprüfen, ob die Samen den Transport unbeschadet überlebt hatten und noch keimfähig waren, wurden unter sterilen Bedingungen aus jeder Frucht 3 Samen entnommen und für 14 Tage zum Keimen ausgelegt. Damit der Keimprozess besser beobachtet werden konnte, wurde die Testa samt anhaftenden Pulparesten von den Samen entfernt. Danach wurden sie in mit feuchtem Papier versehenen Glasgefäßen (sterilisierte 100er Weckgläser mit Filzring) zum Keimen ausgelegt (Klimakammer mit einem Tag-/Nachtwechsel von 12/12 Stunden, bei 25°C). Durch das Entfernen der Testa wurde der Keimprozess außerdem beschleunigt.

Dabei stellte sich heraus, dass die Samen der letzten beiden Lieferungen (von insgesamt drei) aus Trinidad nicht zu 100% auskeimten. Von der zweiten Lieferung (Genotyp IMC 67) keimten nur 5 von 15 ausgelegten Samen, von der dritten Lieferung keimten nur 3 der 21 ausgelegten Samen. Die Samen aus der ersten Lieferung keimten alle aus. Nur Samen, die sich unter bestimmten Kriterien innerhalb von zwei Wochen zu Keimlingen entwickelten, wurden als gekeimte Samen gezählt. Nur Kotyledonen, die weder verbräunt noch vertrocknet waren und deren vorgeschobene Radikula in den 14 Tagen kontinuierliches Wachstum zeigte, wurden als gekeimt eingestuft. Häufig zeigten Samen folgende Entwicklung: die Radikula verlängerte sich in den ersten 4 Tagen deutlich, dann erstarrte diese Streckung. Bei solchen Samen muss davon ausgegangen werden, dass sie durch eine Teilschädigung in ihrer Lebensfähigkeit eingeschränkt waren, da sie anschließend abstarben. Diese Samen wurden als nicht gekeimte Samen gezählt.

3.2.3.4 Bestimmung des pH-Wertes

Täglich wurde in dem für die Probenahme vorgesehenen Gefäß der pH-Wert des Inkubationsmediums kontrolliert. Der pH-Wert wurde an jeweils drei Samen pro Inkubationsprobe gemessen (siehe Kapitel 3.2.2.4).

3.2.3.5 Probenahme und Trocknung

Täglich wurde eines der Inkubationsgefäße beprobt.

An 3 der 20 inkubierten Samen wurde die pH-Messung durchgeführt, 12 Samen wurden eingefroren und 5 Samen wurden im ventilierten Ofen (Typ UE 500, Fa. Memmert) bei 35°C für 5 Tage getrocknet. Die getrockneten Samen wurden wie unter Kapitel 3.2.1.1 beschrieben geschnitten und die Anschnittflächen fotografiert.

Für die anschließenden biochemischen Analysen wurden sowohl die eingefrorenen als auch die getrockneten Samen 7 Tage gefriergetrocknet, die Testa und die Radikula entfernt und die Kotyledonen entfettet.

3.2.4 Statistische Auswertung

3.2.4.1 Varianzanalyse und Mittelwertvergleiche

Im Kapitel 4.1 werden die Ergebnisse verschiedener biochemischer, physikalischer und warenkundlicher Untersuchungsmethoden von 120 Rohkakaoproben der Spezies *T. cacao* L dargestellt. Diese Proben stammen aus 22 verschiedenen Herkünften. Wie in Kapitel 2.2 ausgeführt, ist die Beschaffenheit einer Probe das Ergebnis unterschiedlicher Einflussgrößen. Dazu zählen verschiedene biotische und abiotische Faktoren. Insbesondere der Genotyp, die Art und Durchführung der Nachernteverfahren, die klimatischen Verhältnisse während des Reifeprozesses und die Erntequalität wirken sich auf die Eigenschaften des Rohkakaos aus. Abgesehen von der Kenntnis der Herkunft der Probe, sind bei Warenproben in der Regel keine oder nur wenige Informationen über diese Faktoren verfügbar.

Einerseits bedingt durch die historische Verbreitung der Genotypen, andererseits aus geopolitischen Gründen muss davon ausgegangen werden, dass sich Rohkakao aus verschiedenen Herkünften voneinander unterscheidet. Dies findet sich in der Tatsache wieder, dass es landestypische Unterschiede der angebauten Genotypen (ESKES & LANAUD (2001) so genannte „landraces“ gibt. Außerdem ist die Durchführungen der Nachernteverfahren, die durch teils staatliche Reglementierung (u. a. durch so genannte Cocoa Boards) vorgeschrieben ist, oder auf traditionelle Art ausgeführt wird, oft innerhalb einer Herkunft vergleichbar. Hinter der Information der Herkunft einer Rohkakaoprobe verbirgt sich die Summe der landes- bzw. regionspezifischen Einflussgrößen. Diese wirken sich auf bestimmte Eigenschaften der Rohkakaoproben aus. In Kapitel 4.1.2 bis 4.1.7 sind von 27 verschiedenen Variablen die Merkmalsausprägungen der 120 Rohkakaoproben dargestellt.

Durch Analysen der Varianzen (nach ANOVA) und anschließende multiple Mittelwertvergleiche wurde überprüft, welchen Einfluss die Herkunft der Proben auf die untersuchten Variablen hatte. Dabei wurden folgende 13 Herkünfte als Gruppierungsvariablen (kategoriale Faktoren) verwendet: Ecuador, Ecu Mono (Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48), Haiti, Tansania, Uganda, Venezuela, Nigeria, Togo, Ghana, Elfenbeinküste, Madagaskar, Java (Indonesien) und Papua-Neuguinea. Um den Test nach ANOVA durchführen zu können, wurde die Probenzahl bei denjenigen Herkünften, von denen mehr als 4 Proben vorlagen, auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert, so dass alle Gruppen eine Probengröße von $n = 4$ aufwiesen.

Als abhängige Variable wurden die folgenden Parameter untersucht:

- | | |
|----------------------------|------------------------------------|
| - pH-Wert | - GABA-Wert |
| - Essigsäuregehalt | - Stickstoffgehalt |
| - Milchsäuregehalt | - Rohproteingehalt |
| - Gesamtphenolgehalt | - Fettgehalt |
| - Epicatechingehalt | - Palmitinsäureanteil* |
| - Catechingehalt | - Stearinsäureanteil* |
| - Antioxidatives Potenzial | - Ölsäureanteil* |
| - Theobromingehalt | - Linolsäureanteil* |
| - Coffeingehalt | - Diglyceridanteil |
| - T/C-Verhältnis | - POP-Triglyceridanteil |
| - FAA-Gesamtgehalt | - POS-Triglyceridanteil |
| - Alaningehalt | - SOS-Triglyceridanteil |
| - Asparaginsäuregehalt | - Samengewicht |
| - Threoningehalt | * bezogen auf die Gesamtfettsäuren |

Die Grundidee der Varianzanalyse besteht darin, die Gesamtvarianz eines Merkmals (unabhängige Variable) von der durch ein anderes erklärendes Merkmal (auch Faktor, kategorialer Faktor, Gruppierungsvariable oder abhängige Variable genannt) bedingten Varianz zu trennen. Dabei wird geschätzt, inwieweit die auf der Inner-Gruppen-Streuung basierende Varianz, z.B. innerhalb der Proben einer Herkunft, geringer ist als die Gesamtstreuung um den Gesamtmittelwert, z.B. der Proben aller Herkünfte. Die Inner-Gruppen-Streuung (Abweichung der einzelnen Messwerte innerhalb der Gruppen vom Gruppenmittelwert, auch Residualvarianz, Fehlervarianz oder SQ-Fehler genannt) berechnet sich dabei aus der Summe der Quadrate der Abweichungen der Einzelwerte vom Gruppenmittelwert, während sich die Zwischen-Gruppen-Streuung aus der Abweichung der Gruppenmittelwerte vom Gesamtmittelwert über alle Gruppen (SQ-Effekt) berechnet.

Über den F-Test, der den Quotienten aus geschätzter Varianz zwischen den Gruppen (mittlere Quadratsumme Effekt oder MQ-Effekt) und der geschätzten Varianz innerhalb der Gruppen (mittlere Quadratsumme Fehler oder MQ-Fehler) darstellt, wird überprüft, ob die Gruppenzugehörigkeit der Proben einen Einfluss auf die abhängige Variable hat. Davon muss ausgegangen werden, wenn die Unterschiede zwischen den Gruppen bei gleichzeitig geringer Varianz innerhalb der Gruppen relativ groß sind.

Die Nullhypothese (keine Mittelwertdifferenz zwischen den Gruppen in der Grundgesamtheit) wird angenommen, sofern der Quotient aus der geschätzten Varianz der Zwischen-Gruppen-Streuung zur geschätzten Varianz der Inner-Gruppen-Streuung ungefähr gleich ist. Sobald der F-Wert größer 1 ist, kann bei einer angegebenen Irrtumswahrscheinlichkeit von einer Mittelwertdifferenz zwischen den Gruppen, d.h., einem Effekt der Gruppierungsvariablen ausgegangen werden.

Im Text wurde die folgende Kurzform zur Darstellung der durchgeführten F-Testergebnisse (nach ANOVA) gewählt: $F(39, 12) = 8,23; p = 0,001^*$; *signifikant)

Aus diesem Term können alle zur Beurteilung des F-Testes nötigen Informationen abgelesen werden: ein F-Test wurde mit einem Zwischen-Gruppen Freiheitsgrad von 39 und mit einem Inner-Gruppen Freiheitsgrad von 12 durchgeführt. Das F-Test Ergebnis (Quotient aus MQ-Effekt und MQ-Fehler) ergab, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p = 0,001$, $F = 8,23$ und ist signifikant. Die ausführliche Darstellung der Ergebnisse der Varianzanalysen (inkl. SQ-, und MQ-Effekt und SQ- und MQ-Fehler, F- und p-Werte) findet sich in der Tabelle Tab. 25 im Anhang.

Welche der einzelnen Gruppenmittelwerte sich im Einzelnen signifikant von anderen unterschieden, lässt sich im Anschluss an eine ANOVA mit einem *post-hoc*-Test prüfen. Für die Mittelwertvergleiche in den Kapiteln 4.1.2 bis 4.1.7 wurde der Fischer LSD (least-significance-difference-Test) bei einer Fehlerwahrscheinlichkeit kleiner 5% ($p < 0,05$) verwendet. Signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten wurden in einer Box-Plot Grafik mit unterschiedlichen Buchstaben markiert. Dabei erhielten Mittelwerte, die sich nicht signifikant voneinander unterschieden, gleiche Buchstaben.

3.2.4.2 Test auf Normalverteilung

Die Samengewichte der Rohkakaoproben wurden auf ihre Normalverteilung hin überprüft. Hierfür standen die Einzelgewichte von 100 Samen zur Verfügung. Die Prüfung erfolgte auf dem grafischen Weg über Häufigkeits- und Normalverteilungsplots und über einen Anpassungstest. Bei dem Anpassungstest wurde die Normalverteilung mit dem Lilliefors-Test of normality (Lilliefors-Test) geprüft. Dieser Test nimmt eine Normalverteilung der Daten an und testet die Wahrscheinlichkeit einer Abweichung von der Normalverteilung. Dies bedeutet, dass die Nullhypothese desto besser abgesichert ist, je höher das Signifikanzniveau α liegt. Bei diesem Test liegt die Beweislast nicht bei der Nullhypothese (hier: „Die Samen sind normalverteilt“), sondern bei der Alternativhypothese („Die Samen sind nicht normalverteilt“).

Da die Prüfung mit dem Lilliefors-Test nur eine Ja/Nein-Aussage liefert, wurde im Anschluss überprüft, von welcher Art die Verteilung der Samengewichte war. Dafür wurden Häufigkeitsverteilungen von Samengewichtsklassen grafisch dargestellt. Die Samengewichte der

Proben wurden in 17 Gewichtsklassen (0,0 g-> 2,4 g in 0,15 g Schritten: 0,0 g- 0,15 g; 0,16 g- 0,30 g usw. bis 2,26 g-2,40 g und > 2,4 g) unterteilt und deren Häufigkeit in Form von Säulendiagrammen dargestellt. Im Anschluss wurden die ermittelten Häufigkeitsverteilungen aller Proben vier verschiedenen Mustern zugeordnet:

- A) modale Verteilung (u. a. Normalverteilung), d.h. die Grafik der Häufigkeitsverteilung entspricht in ihrer Form annähernd der einer Gaußschen Normalverteilungskurve,
- B) rechts-/oder linksschiefe Verteilung: d.h. die Form der Häufigkeitsverteilung ähnelt der einer Gaußschen Verteilung, auf der einen Seite fällt sie aber entweder vor oder nach der Säule mit der höchsten Häufigkeit im Gegensatz zur anderen Seite stark ab,
- C) Verteilung ohne deutliches Häufigkeitsmaximum einer der 17 Gewichtsklassen, mehrere Gruppen haben Anteile zwischen 9-15%,
- D) bimodale oder oligomodale Verteilung der Gewichtsklassen, die mehrere Maxima aufweisen, die voneinander getrennt sind.

Um eine mögliche Abweichung der Samengewichtsverteilung von der Normalverteilung darzustellen, wurden außerdem Normalverteilungsplots erstellt. Die Normalverteilungsplots stellen den tatsächlich gefundenen Samengewichten (auf der Abszisse dargestellt) einen bei angenommener Normalverteilung errechneten Wert (auf der Ordinate) gegenüber. Für diese Darstellungsform wurden die Werte zunächst in eine Rangfolge sortiert. Auf der Basis der Annahme, dass die Daten normalverteilt sind, wurden aus diesen Rängen dann Z-Werte (Werte einer standardisierten Normalverteilung) berechnet. Im Plot wurden diese Z-Werte auf der Y-Achse dargestellt. Sind die beobachteten Werte, die auf der X-Achse dargestellt sind, normalverteilt, stellen die Wertepunkte eine Gerade dar, in deren Wertepunktmittelpunkt im Idealfall auch gleichzeitig der Mittelwert liegt. Ist dies nicht der Fall, weichen sie von der Geraden ab.

Über die Visualisierung der gefundenen bzw. auch der angenommenen Werte ermöglichen beide Prüfmethoden eine detaillierte und übersichtliche Ergebnisdarstellung und Auswertung der Verteilung.

3.2.4.3 Hauptkomponentenanalyse

Die Beziehungen zwischen den Variablen und den Einzelproben wurde über eine Hauptkomponentenanalyse (PCA) berechnet. Bei dieser Methode werden die Proben oder die verwendeten Variablen entlang von n Achsen so angeordnet, dass sich die maximale Unterscheidung der Proben/Variablen auf der x -Achse ergibt. Die folgenden Achsen weisen jeweils niedrigere Trennungsgrade auf. Über die grafischen Darstellungen kann eine Einschätzung der Beziehungen zwischen den einzelnen Proben bzw. Variablen über die Vektoren erfolgen. Der Kosinus des Winkels zweier Vektoren entspricht dabei dem Korrelationskoeffizienten r der verglichenen Parameter. Es wurden ein PCA-Plot mit der Darstellung der Zusammen-

hänge zwischen den berechneten Variablen und ein weiterer mit der Darstellung der Proben angefertigt. Die Proben wurden nach Herkunft gruppiert und im Koordinatensystem mit Hilfe von Symbolen dargestellt. Für diese Analyse wurden die in Tab. 3 markierten Proben verwendet. Ausgeschlossen wurden Proben, deren FAA- oder Catechingehalte nicht analysiert wurden, sowie die Proben der Spezies *T. grandiflorum* (Bra 1, 2).

Der Analyse liegen die Werte der folgenden Variablen (Parameter) zugrunde: Anteil *schiefziger, violetter, fermentierter* Samen, Samengewicht, Testanteil (= Testa [%]), Testagewicht (= Testa [g]), pH-Wert, Kjeldahl-Stickstoffgehalt (= Stickstoff), Gesamtphenolgehalt und Antioxidatives Potenzial (= Antiox. Potenzial), Gehalt an Epicatechin, Essigsäure, Milchsäure, Coffein und Theobromin, Quotient aus Theobromin- zu Coffeingehalt (= T/C), GABA-Wert, FAA-Gesamtgehalt (FAA), Gehalte aller Einzelwerte proteinogener FAA außer Lysin, Histidin, Methionin, Tryptophan und Glutamin, Fettgehalt und die Anteile an Palmitinsäure, Ölsäure, Stearinsäure und POP-Triglyceridanteil (POP); außerdem wurden 5 zusätzliche, d.h. nicht berechnete Parameter eingezeichnet: Anteil *schimmlicher, weißer* (entspricht der Variablen *hellbrechende* Samen), Catechingehalt (Catechin), Säurezahl, Diglyceridanteil.

3.2.4.4 Agglomerative Clusteranalyse

Mögliche Zusammenhänge zwischen den Variablen wurden außerdem über die Durchführung einer agglomerativen Clusteranalyse in Form eines Dendrogrammes (Baumdiagrammes) visualisiert. Diese Analyse wurde auf Basis einer quadratischen Korrelationsmatrix (Korrelationskoeffizient r) von 10 Variablen (Samengewicht, pH-Wert, GABA-Wert, Epicatechingehalt, Gesamtphenolgehalt, Essig- und Milchsäuregehalt, FAA-Gesamtgehalt, T/C-Verhältnis (T/C) und Fettgehalt) durchgeführt. Diese Variablen wurden aus der Gesamtheit der untersuchten Variablen ausgewählt, da die Ergebnisse der Mittelwertvergleiche dieser Parameter am aussagekräftigsten waren.

Bei der agglomerativen Clusteranalyse handelt es sich um ein hierarchisches Verfahren, das jedes Objekt (in diesem Fall Variablen) einer Gruppe (Cluster) zuordnet. Damit sind Aussagen über die Verwandtschaft der Gruppen möglich. Der Vergleich der Objekte aus verschiedenen Clustern ist jedoch nicht möglich. Dabei wurde die agglomerative Methode, die *complete linkage* Methode gewählt. Bei agglomerativen Methoden handelt es sich um zusammenführende oder verschmelzende Methoden, die von einzelnen Objekten ausgehen und das Dendrogramm vom Einzelnen zum Gesamten zeichnen. Dabei wird als erstes eine Ähnlichkeitsmatrix (Distanzmatrix) berechnet, welche das Maß für die Verschmelzungsebenen widerspiegelt (in der Grafik als Distanz auf der x-Achse dargestellt).

Folgend wird ein Paar mit der geringsten Distanz (größten Ähnlichkeit) zu einem Cluster zusammengefasst. Anschließend wird der Algorithmus wiederholt und damit das nächste Objektpaar gesucht, welches eine größere Ähnlichkeit zueinander hat. Dieser Schritt wiederholt sich bis alle Objekte zugeordnet sind. Das Distanzmaß zwischen den Clustern und

Variablen eines Clusters gibt also Auskunft darüber, wie ähnlich bzw. unähnlich sich die Cluster sind. Bei der *complete linkage* Methode wird der Abstand der Gruppen als der Abstand der entferntesten Objekte der Gruppe definiert. Dabei sind die Abstände definiert als Abstände zwischen individuellen Objekten.

3.2.4.5 Diskriminanzanalyse

Um die Gruppenunterschiede zwischen den Herkunftsnäher zu untersuchen, wurde eine Diskriminanzanalyse durchgeführt. Dabei handelt es sich um ein multivariates Verfahren, welches unter Berücksichtigung von zwei oder mehreren Variablen ermittelt, wie sich diese Gruppen unterscheiden. Es handelt sich im Gegensatz zur Clusteranalyse nicht um ein exploratives sondern um ein konfirmatorisches Verfahren, da Gruppen vorgegeben werden. Mithilfe der Diskriminanzanalyse kann die Qualität der vorgegebenen Gruppierung (in diesem Fall der Herkunftsnäher) analysiert werden. Außerdem kann ermittelt werden, welche der Variablen für die Gruppenbildung besonders geeignet sind, bzw. auf welche Variablen sich die Unterschiede der Gruppen hauptsächlich zurückführen lassen.

Bei dem Verfahren werden Diskriminanzfunktionen berechnet, die die Maximierung des Abstandes zwischen den Gruppen und die Minimierung der Abstände innerhalb der Gruppen zum Ziel haben. Das Ergebnis kann später grafisch aus zwei Diskriminanzfunktionen dargestellt werden, wobei diese im Raum so angeordnet werden, dass sie ein Koordinatenkreuz bilden. Dabei werden in der Regel diejenigen Funktionen (auch Roots genannt) ausgewählt, die die größte Trennkraft aufweisen.

Zur Prüfung der Güte der Diskriminanzfunktion wird die Trennkraft hinsichtlich der verschiedenen Gruppen untersucht. Dabei wird für jedes Element mit Hilfe der Diskriminanzfunktion ein Wert auf der Diskriminanzachse berechnet. Je nachdem ob dieser Wert größer oder kleiner als der kritischen Diskriminanzwert (errechnet aus dem arithmetischen Mittel von Cluster A plus dem arithmetischen Mittel von Cluster B geteilt durch 2²) ist, wird das Element dem einen oder dem anderen Cluster zugeordnet. Der Anteil an richtig zugeordneten Elementen aller Cluster spiegelt die Trennkraft der Diskriminanzfunktion wieder (nur bei einer Trefferquote > 50% ist die Diskriminanzfunktion von Nutzen).

Eine andere Möglichkeit der Überprüfung der Diskriminanzfunktion ist die Berechnung der kanonischen Korrelationskoeffizienten aus dem Eigenwert. Dieses Gütemaß würde im Zwei-Gruppen-Fall dem Bestimmtheitsmaß einer Regressionsanalyse entsprechen. Je größer der Koeffizient, desto höher ist die Trennkraft der Diskriminanzfunktion.

Außerdem können über die Berechnung des so genannten Wilk's-Lambda standardisierte Werte zwischen null und eins erhalten werden, die als Gütemaß der Diskriminanzfunktion dienen, wobei der Wilk's-Lambda ein inverses Gütemaß ist: je kleiner die Werte desto größer ist die Trennkraft der Diskriminanzfunktion.

² im Falle von zwei ungleich großen Clustern erfolgt die Berechnung jeweils durch das gewichtete Mittel

Die Prüfung der Merkmalsvariablen erfolgt über standardisierte Diskriminanzkorrelationskoeffizienten. Über die Multiplikation der Diskriminanzkoeffizienten mit den Standardabweichungen der entsprechenden Variablen wird der Einfluss der verschiedenen Maßeinheiten der Ausgangsvariablen herausgerechnet. Im Vergleich von zwei Variablen hat diejenige den größeren Einfluss auf die Clusterung, die den höheren Diskriminanzkoeffizienten aufweist.

3.2.4.6 Dargestellte Streuungsmaße

In den Darstellungen wurden entweder der Median und die 25-75% Perzentile, die Schwankungsbreiten und die Standardabweichung oder die Konfidenzintervalle dargestellt.

Alle statistischen Analysen wurden mit Hilfe des Computer-Programms Statistica Version 6.1 der Firma StatSoft durchgeführt.

4 Ergebnisse

4.1 *Warenkundliche Charakteristika von Rohkakao*

4.1.1 **Vorbemerkung**

Dieses Kapitel beschreibt die Untersuchung von 122 Rohkakaoproben aus 22 Ländern (120 Proben von *T. cacao* L., sowie zwei von *T. grandiflorum* (Willd ex Spreng) Schum). Hierfür wurden verschiedene warenkundliche, biochemische, biologische und physikalische Untersuchungen durchgeführt, die mit unterschiedlichen statistischen Verfahren ausgewertet wurden.

Bevor ausführlich auf die Ergebnisse aus Kapitel 4.1 „Warenkundliche Charakteristika von Rohkakao“ eingegangen wird, sei darauf hingewiesen, dass die vereinfachte Darstellung der Analysenergebnisse bereits im Cocoa Atlas 2002 veröffentlicht wurde (LIEBEREI & ROHSIUS, 2002). Eine wissenschaftliche Aus- und Bewertung dieser Ergebnisse erfolgt in der vorliegenden Arbeit.

Der Auswertung liegen die folgenden Fragen zu Grunde:

- a) Welche Variabilität weist Rohkakao verschiedener Herkunft bezogen auf die untersuchten Parameter auf?
- b) Lässt sich die gehandelte Ware Rohkakao aus verschiedenen Anbaugebieten über die Analyse biochemischer Parameter differenzieren?
- c) Gibt es durch die analysierten Parameter erfassbare Syndrome (Gruppen von Merkmalen), die für Rohkakao einer Herkunft charakteristisch sind?

Die untersuchten Parameter wurden thematisch gegliedert und in die folgenden Kapitel unterteilt:

- pH-Werte und Säuregehalte (Essig- und Milchsäuregehalte)
- Phenolische Substanzen (Gesamtphenol-, Epicatechin- und Catechingehalt, Antioxidatives Potenzial),
- Methylxanthine (Theobromin- und Coffeingehalt),
- Gehalt an freien Aminosäuren, Stickstoff- und Rohproteingehalt
- Fettgehalt und Fettzusammensetzung
- Schnitt-Test (Ergebnisse der Schnittprüfung, der Bohngewichtsmessung)

Innerhalb der Kapitel werden die Beziehungen zwischen den Parametern einer Gruppe untersucht. Einen Überblick über die Ergebnisse aller Parameter bieten die Tab. 19 bis Tab. 24 (Mittel-, Minimum- und Maximumwerte für jede Herkunft) im Anhang.

Im Anschluss an die Auswertung einzelner Parameter folgt eine Einordnung der Ergebnisse aller Parameter durch verschiedene statistische Analysemethoden:

- In Kapitel 4.1.8 „Bivariate und multivariate Zusammenhänge zwischen den Variablen“ wird untersucht, ob die untersuchten Parameter voneinander abhängen und in welcher Beziehung sie zueinander stehen.
- In Kapitel 4.1.9 „Darstellung der Unterschiede zwischen Rohkakao unterschiedlicher Herkunft und Fermentationsgrade sowie zwischen Edel- und Konsumkakao mittels multifaktorieller Analysen“ wird der Frage nachgegangen, inwieweit sich Proben unterschiedlicher Herkunft voneinander unterscheiden und ob es möglich ist, bestimmte Indikatoren für die Unterscheidung von Rohkakao unterschiedlicher Herkunft zu definieren.

4.1.2 pH-Werte und Säuregehalte der Rohkakaoproben

Unabhängig von ihrer genetischen Herkunft und den Wuchsbedingungen schwanken der pH-Wert und die Gehalte an Essig- und Milchsäure in frischen (unfermentierten) Kakaosamen kaum. Bei der Fermentation verändern sich erst durch die Aktivität von Milch- und Essigsäurebakterien die Gehalte an Milch- und Essigsäure und, dadurch bedingt, der pH-Wert der Kakaosamen. Auch die anschließenden Nacherntebehandlungen Trocknung und Lagerung können grundsätzlich die Säuregehalte und den pH-Wert der Kotyledonen beeinflussen (JINAP, *et al.* 1994). Alle drei Parameter werden also in erster Linie durch die Nachernteverfahren beeinflusst.

Da die Nacherntebehandlungen der Kakaosamen in den Produktionsländern unterschiedlich durchgeführt werden, soll geklärt werden,

- a) wie hoch die Schwankung der Säurewerte insgesamt, sowie innerhalb einer Herkunft ist,
- b) ob sich Rohkakao unterschiedlicher Herkunft bezüglich dieser Parameter unterscheidet,
- c) welche Zusammenhänge zwischen Essigsäuregehalt, Milchsäuregehalt und pH-Wert in Rohkakaoproben gelten,
- d) ob es herkunftstypische Beziehungen zwischen den Beurteilungsfaktoren/Parametern gibt.

4.1.2.1 pH-Wert

Die pH-Werte für die Gesamtheit der Proben lagen zwischen pH 4,7 und 6,3 mit einem Mittelwert von 5,6 und einer Standardabweichung von 0,39 (Abb. 19). In den Proben eines einzelnen Herkunftsgebietes jedoch war die Variationsbreite des pH-Wertes geringer. Es fiel auf, dass die Proben einiger Herkünfte jeweils nur einen bestimmten, begrenzten pH-Wert-Bereich abdeckten. So wiesen die Proben der Herkünfte Ecuador (mit Ausnahme der Probe CCN 31), Haiti und Tansania bei geringerer Variationsbreite pH-Werte größer als pH 5,5 auf, während in Proben aus Madagaskar und Java bei ebenfalls geringerer Variationsbreite signifikant niedrigere pH-Werte gemessen wurden (Abb. 19).

Alle Proben der afrikanischen Länder Uganda, Nigeria, Elfenbeinküste und Ghana wiesen pH-Werte größer als pH 5,2 auf. Aufgrund der teils sehr hohen Variationsbreiten innerhalb dieser Herkünfte können die Proben nicht voneinander differenziert werden. Im Mittel wiesen Proben aus Ghana mit pH 5,4 jedoch niedrigere pH-Werte als Proben von der Elfenbeinküste (pH 5,7) auf.

Die geringste herkunftbezogene pH-Wert-Streuung wurde bei Proben der Länder Madagaskar, Ecuador (mit Ausnahme der Probe CCN 31), Ghana, Haiti und Tansania festgestellt; die höchste in den Ländern Uganda, Nigeria und Papua-Neuguinea (Abb. 19).

Besonders hohe pH-Werte über pH 6 wurden in Proben aus Haiti (Hai 1, 3, 4), Sierra Leone, Sulawesi, sowie Ecuador (Ecu 10-12, entspricht den Genotypen EET 95, EET 103; CCN 51), Nigeria (Nig 5, 6, 8-10, 12) und Uganda (Uga 2, 8, 9) gemessen.

Niedrigere pH-Werte, unter pH 5,2, wurden in Proben aus Java (Ind 2, 3, 5, 10), Papua-Neuguinea (Pap 7, 2, 6, 8), Madagaskar (Mad 4, 6-9), der Dominikanischen Republik (Dom 1), sowie in Proben aus São Tomé (São 1) und Ecuador (Ecu 5 = CCN 31) gemessen. Alle übrigen Proben wiesen pH-Werte zwischen pH 5,2 und 6 auf (Abb. 19).

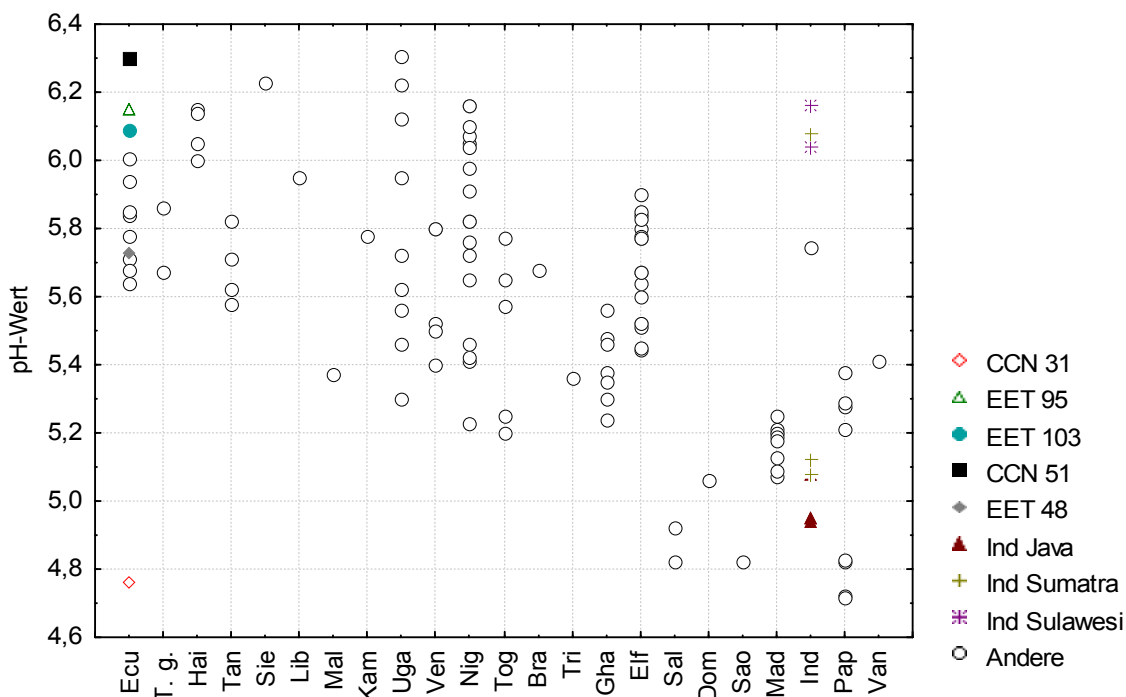


Abb. 19 pH-Werte der Rohkakaoproben
 Dargestellt sind die pH-Werte aller Proben sortiert nach Ländern. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

Aufgrund der teils niedrigen Schwankungsbreite und unterschiedlichen Wertebereiche der Herkünfte wurde über den Mittelwertvergleich festgestellt, dass sich u. a. die Proben der Herkünfte Madagaskar, Java und Papua-Neuguinea statistisch signifikant von Proben aus

Ecuador, Haiti, Uganda, Nigeria und der Elfenbeinküste unterschieden (Abb. 20). Die Varianzanalyse nach ANOVA ergab einen signifikanten Einfluss des Faktors Herkunft auf die Variable „pH-Wert“ ($F_{(12, 39)}=14,79^*$, bei $p = < 0,001$; *signifikant, SQ und MQ-Effekt siehe Anhang Tab. 25).

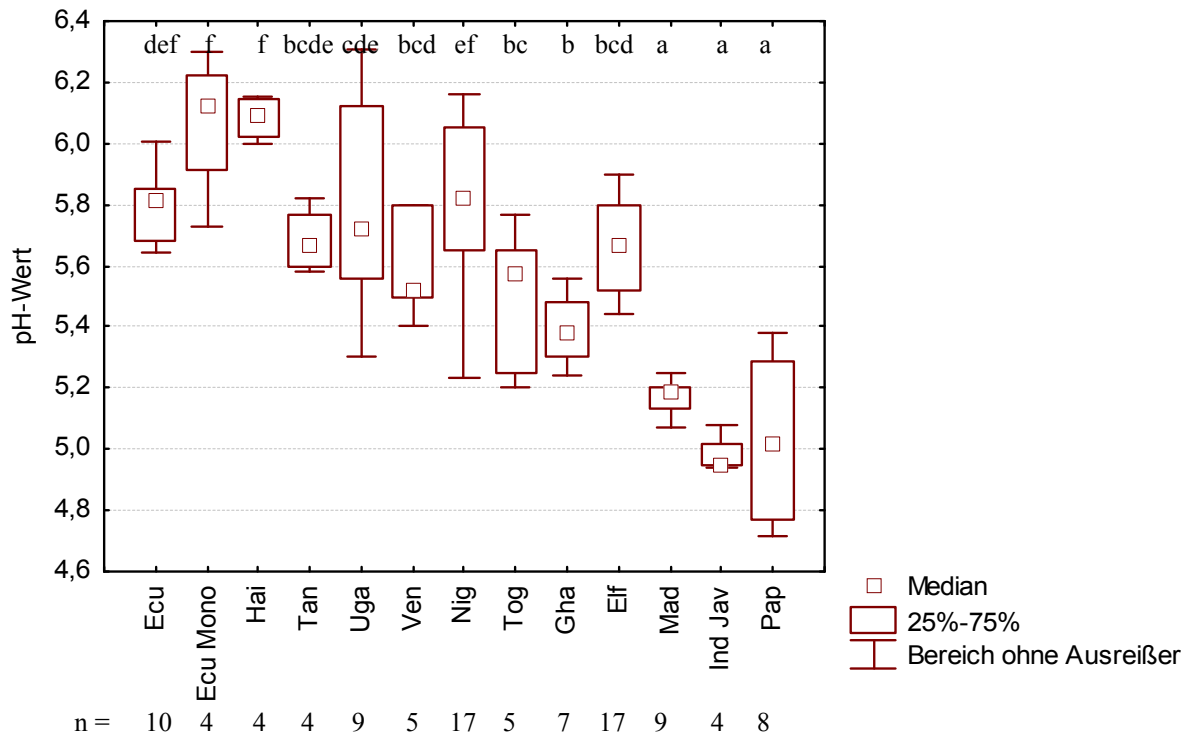


Abb. 20 Mittelwertvergleich: pH-Werte der Rohkakaoproben
 Darstellung der Mediane (□), der 25-75-Perzentile und der Ausreißer (°) für alle Herkünfte mit $n \geq 4$ unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ (*post-hoc*-Test: LSD-Test nach ANOVA, $n = 4$; bei Herkünften mit $n > 4$ wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

4.1.2.2 Essigsäuregehalte

In den Proben wurden Essigsäuregehalte zwischen 2 und 23,5 mg g^{-1} ffTM (MW = 8,7 mg g^{-1} ffTM SD = 5,2) gemessen (Abb. 21), wobei über 60% der Werte im Bereich 4-14 mg g^{-1} ffTM lagen.

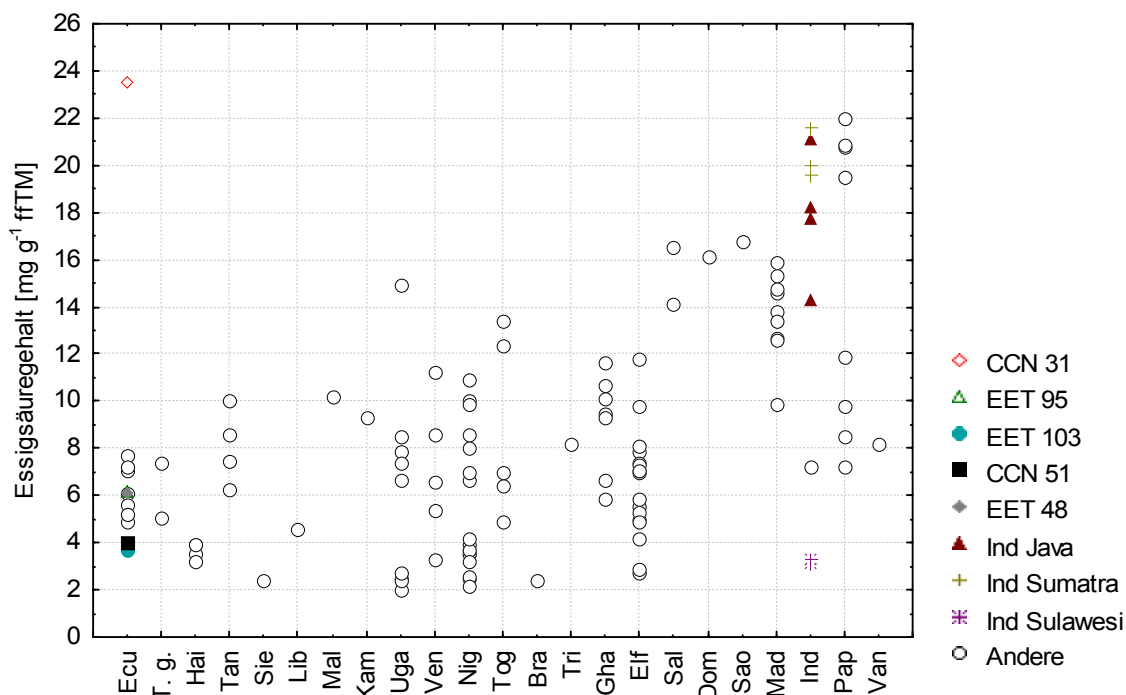


Abb. 21 Essigsäuregehalte der Rohkakaoproben
 Dargestellt sind die Essigsäuregehalte aller Proben sortiert nach Ländern. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

Mit Ausnahme der Probe Uga 1 wiesen nur Proben aus Indonesien (Sumatra und Sulawesi), Madagaskar, Papua-Neuguinea, den Salomonen, der Dominikanischen Republik und São Tomé einen höheren Essigsäuregehalt von $> 14 \text{ mg g}^{-1} \text{ ffTM}$ auf (Abb. 21). Ein Essigsäuregehalt unter $4 \text{ mg g}^{-1} \text{ ffTM}$ wurde in Proben der Länder Haiti, Sierra Leone, Brasilien, Uganda (Uga 2, 6, 8, 9), Venezuela (Ven 2), Nigeria (Nig 2, 4, 6, 8-10, 12), Elfenbeinküste (Elf 1, 2) Ecuador (Ecu 11, 12, entspricht EET 103 und CCN 51) und in Sulawesiproben gemessen (Abb. 21). Alle übrigen Proben wiesen Essigsäuregehalte auf, die zwischen 4 und $14 \text{ mg g}^{-1} \text{ ffTM}$ lagen.

Bezüglich der Schwankungsbreite der Essigsäuregehalte aus Proben einer Herkunft wurde ein ähnliches Muster wie bei der pH-Wert-Messung beobachtet. Für einige Herkünfte ist sie sehr gering, für andere jedoch sehr hoch: Die Proben der Länder Madagaskar, Ecuador (mit Ausnahme der Probe CCN 31), Haiti und Tansania wiesen eine niedrige Streuung der Essigsäuregehalte auf, die Proben aus Uganda, Papua-Neuguinea und Togo eine stärkere. Zwischen Proben aus den Herkunftsregionen Ecuador, Haiti, Uganda und Nigeria einerseits und aus Papua-Neuguinea, Java (Indonesien) und Madagaskar andererseits wurden über den Mittelwertvergleich signifikante Unterschiede hinsichtlich des Essigsäuregehaltes festgestellt (Abb. 22).

Die Varianzanalyse zeigte einen signifikanten Einfluss des Faktors Herkunft auf die Variable „Essigsäuregehalt“ ($F_{(12, 39)} = 7,02^*$ bei $p = < 0,001$, *signifikant, SQ und MQ-Effekt siehe Anhang).

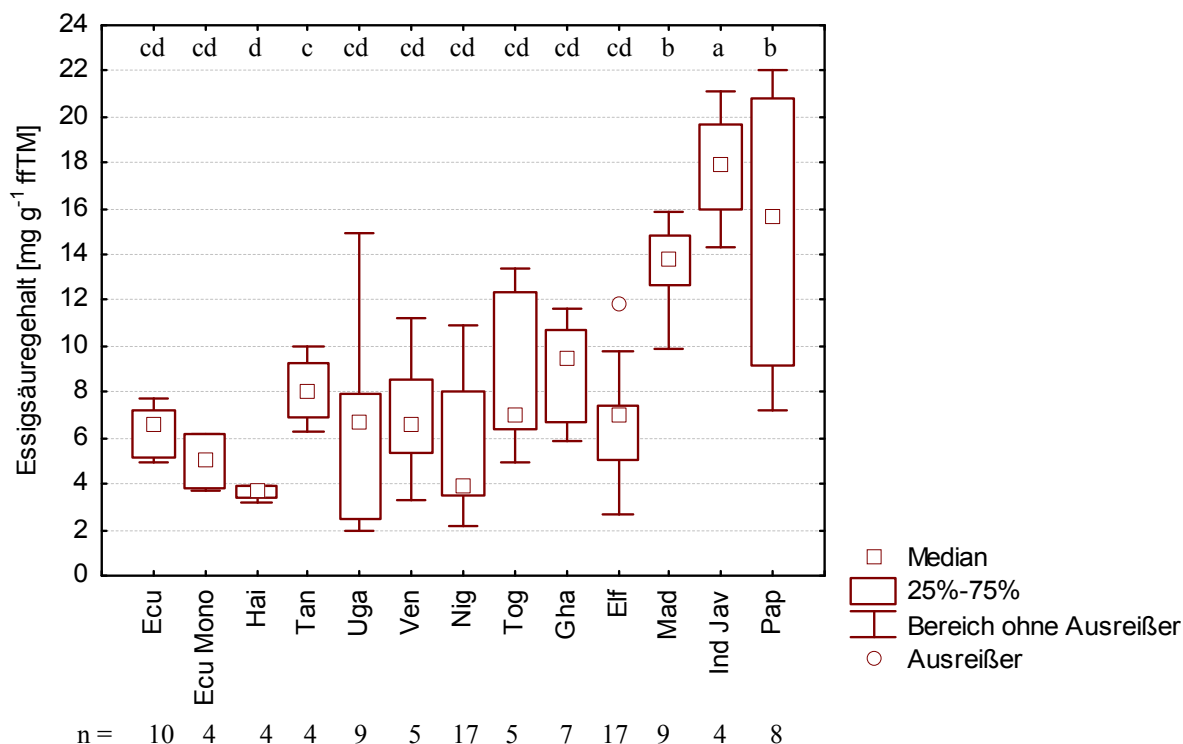


Abb. 22 Mittelwertvergleich: Essigsäuregehalte der Rohkakaoproben
 Darstellung der Mediane (\square), der 25-75-Perzentile und der Ausreißer ($^{\circ}$) für alle Herkünfte mit $n \geq 4$ unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ (*post-hoc*-Test: LSD-Test nach ANOVA, $n = 4$; bei Herkünften mit $n > 4$ wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

4.1.2.3 Milchsäuregehalte

Die Milchsäuregehalte der Proben lagen zwischen 9,6 und 28,8 mg g^{-1} ffTM (MW 17,2 mg g^{-1} ffTM SD 3,8). Gehalte größer als 22 mg g^{-1} ffTM wurden nur in Proben aus Madagaskar und den südostasiatischen Herkünften Papua-Neuguinea, Indonesien (Sumatra) sowie den Salomonen gemessen, also in Proben, deren Essigsäuregehalte gleichfalls erhöht waren. Milchsäuregehalte unter 14 mg g^{-1} ffTM wurden nur in einigen Proben der Länder Ecuador und Sulawesi sowie in allen Proben aus Haiti, Sierra Leone, Tansania und Liberia detektiert (Abb. 23).

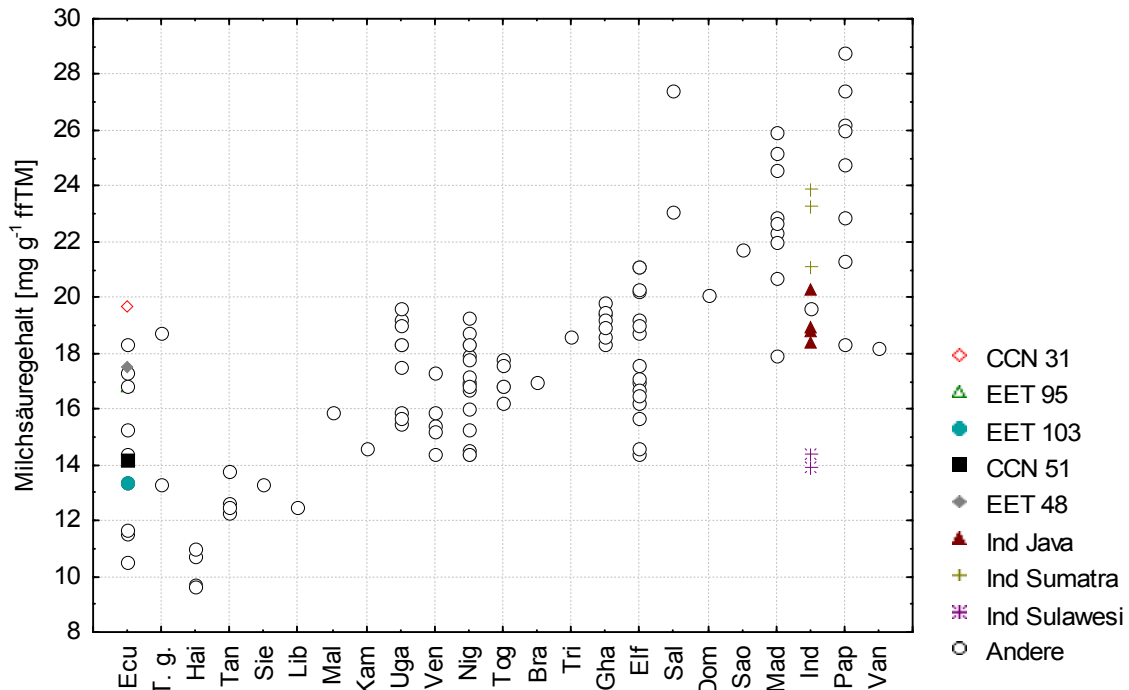


Abb. 23 Milchsäuregehalte der Rohkakaoproben
 Dargestellt sind die Milchsäuregehalte aller Proben sortiert nach Ländern. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

Die Streuung innerhalb der Milchsäuregehalte einiger Herkünfte war größer, als die der entsprechenden Essigsäuregehalte und pH-Werte. Ecuadorproben unterschieden sich zum Beispiel stärker hinsichtlich ihres Milchsäuregehaltes als hinsichtlich ihres Essigsäuregehaltes. Dagegen war die Streuung der Milchsäurewerte der Proben aus Uganda und Togo geringer als die der entsprechenden Essigsäurewerte.

Auch die Auswertung des Mittelwertvergleichs verschiedener Herkünfte ergab signifikante Unterschiede zwischen den Proben aus Papua-Neuguinea, Java und Madagaskar und den Proben aus Ecuador und Haiti. Zusätzlich unterschieden sich bezüglich der Essigsäuregehalte Tansaniaproben von Proben aus Ecuador und Haiti. Die Herkunft der Proben hatte einen signifikanten Einfluss auf die Variable „Milchsäuregehalt“ ($F_{(12, 39)} = 15,16^*$ bei $p = <0,001$, *signifikant, SQ und MQ-Effekt siehe Anhang Tab. 25).

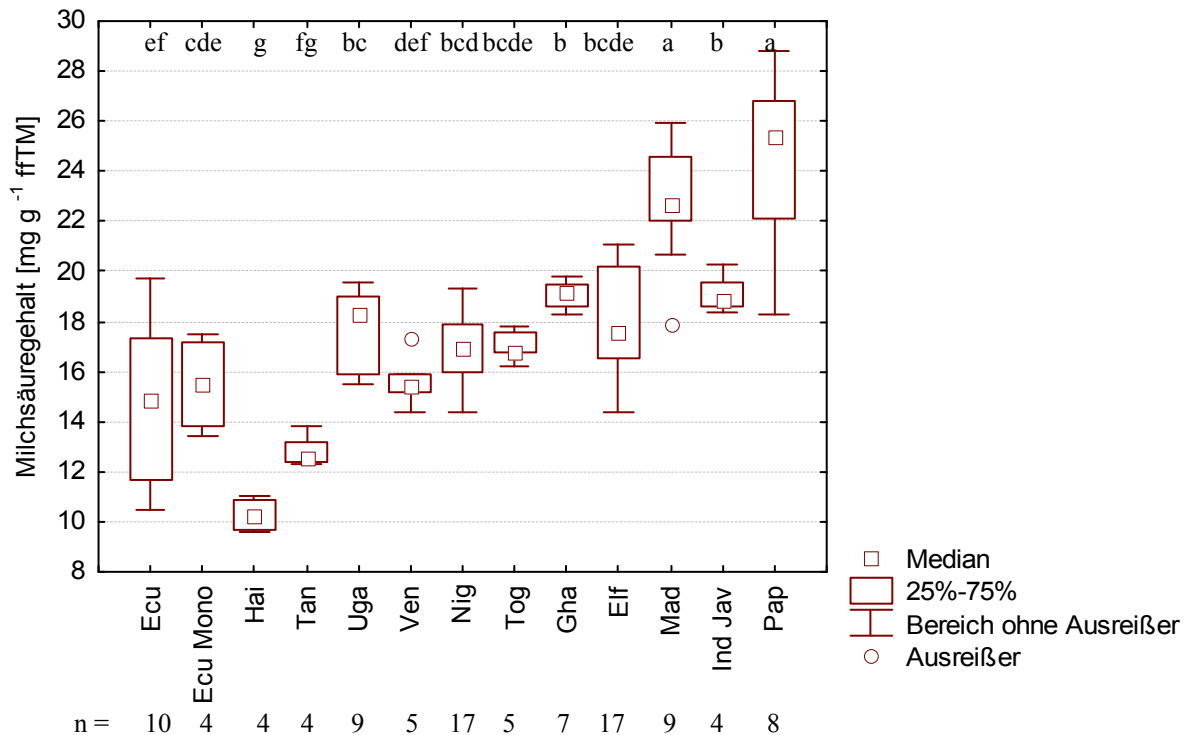


Abb. 24 Mittelwertvergleich: Milchsäuregehalte der Rohkakaoproben
 Darstellung der Mediane (□), der 25-75-Perzentile und der Ausreißer (°) für alle Herkünfte mit n ≥ 4 unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von p < 0,05 (post-hoc-Test: LSD-Test nach ANOVA, n = 4; bei Herkünften mit n > 4 wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

4.1.2.4 Zusammenhang zwischen pH-Wert, Essig- und Milchsäuregehalt

Die Gehalte beider Säuren korrelierten stark mit dem pH-Wert der Rohkakaobohnen. Der Essigsäuregehalt ist stark negativ mit dem pH-Wert der Proben korreliert ($r^2 = 0,83$ $r = -0,91$ bei $p = 0,01$) (Abb. 25). Die Korrelation des pH-Wertes mit dem Milchsäuregehalt war im Gegensatz dazu nur gering ($r^2 = 0,48$ $r = -0,69$ bei $p = 0,01$) (Abb. 26). Im Verhältnis gering war auch der Zusammenhang zwischen dem Essig- und Milchsäuregehalt ausgeprägt ($r^2 = 0,45$ $r = 0,67$ bei $p = 0,05$) (Abb. 27).

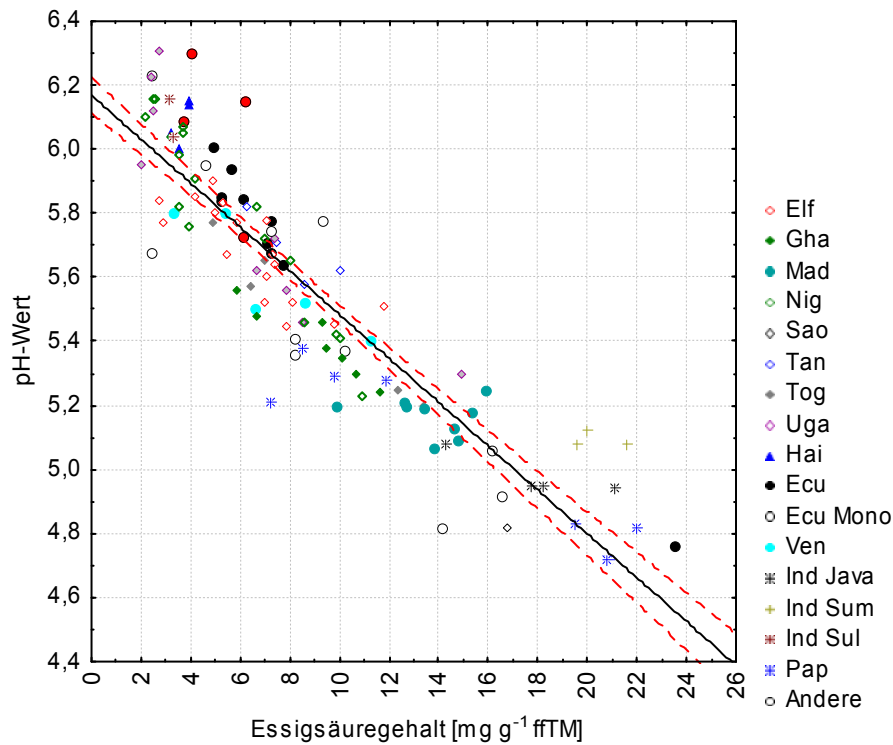


Abb. 25 Zusammenhang zwischen pH-Wert und Essigsäuregehalt der Kotyledonen
 Als schwarze Linie eingezeichnet ist die Regressionsgerade ($r^2 = 0,83$; $r = -0,91$, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,01$), rot dargestellt ist das 95%-Konfidenz-Intervall

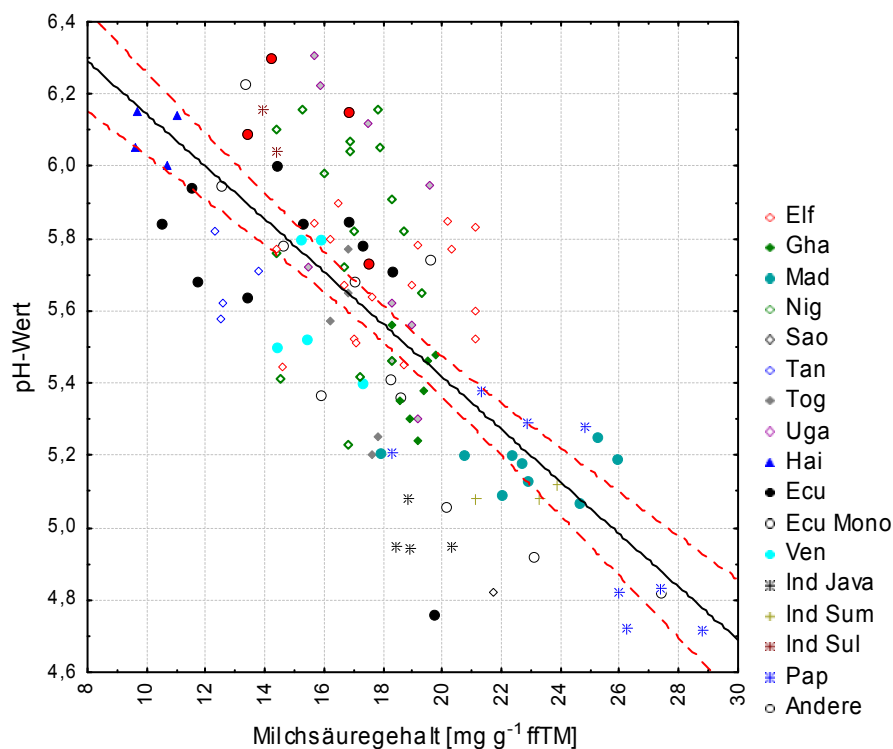


Abb. 26 Zusammenhang zwischen pH-Wert und Milchsäuregehalt der Kotyledonen
 Als schwarze Linie eingezeichnet ist die Regressionsgerade ($r^2 = 0,48$; $r = -0,69$, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,01$), rot dargestellt ist das 95%-Konfidenz-Intervall

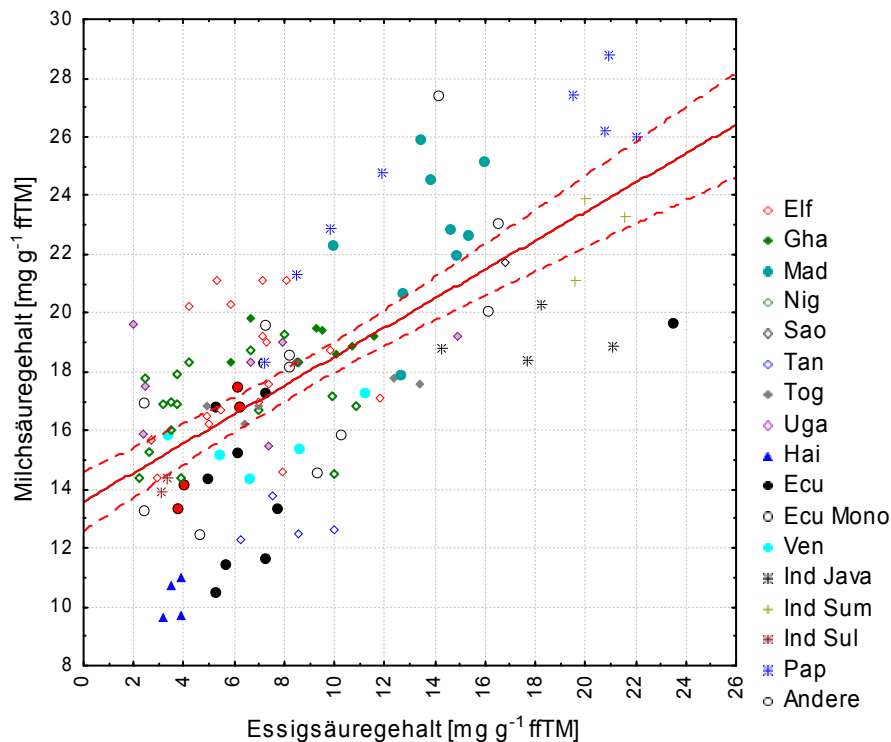


Abb. 27 Zusammenhang von Milchsäuregehalt und Essigsäuregehalt
 Als schwarze Linie eingezeichnet ist die Regressionsgerade ($r^2 = 0,45$; $r = 0,67$, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,01$), rot dargestellt ist das 95%-Konfidenz-Intervall

Bei gleichem pH-Wert und ähnlichen Essigsäuregehalten wurden herkunftsspezifische Unterschiede der Milchsäuregehalte beobachtet. Bei pH-Werten über pH 6 und Essigsäuregehalten kleiner $6 \text{ mg g}^{-1} \text{ fTMM}$ wiesen z. B. Proben aus Haiti niedrigere Milchsäuregehalte auf als Proben aus Nigeria oder Uganda. Eine diesem Muster entsprechende Tendenz zeigte sich auch bei dem Vergleich von Tansania zu Elfenbeinküstenproben, Java zu Madagaskarproben und Venezuela zu Ghanaproben.

Da die Milchsäure und Essigsäure unter unterschiedlichen Bedingungen und zu verschiedenen Zeitpunkten während der Fermentation entstehen und in die Kotyledonen eindringen, verändert sich das Verhältnis aus Milchsäuregehalt zu Essigsäuregehalt (M/E) im Verlauf der Fermentation. Anschließend hat der Trocknungsprozess einen starken Einfluss auf den im Samen verbleibenden Essigsäuregehalt und wirkt damit besonders auf das Verhältnis M/E ein. Aus diesen Gründen kann die Differenzierung einiger Proben über die Betrachtung des Verhältnisses aus Milch- zu Essigsäuregehalt erfolgen und weitere Informationen liefern.

In Proben aus Madagaskar, Sumatra, den Salomon-Inseln und São Tomé und einigen Papua-Neuguineaproben sowie der Probe Ecu 5 (entspricht Genotyp CCN 31) aus Ecuador lag ein niedriges M/E-Verhältnis vor. In Proben aus Haiti, Tansania, Java und Venezuela war das M/E-Verhältnis bei jeweils vergleichbarem Essigsäuregehalt kleiner als das von Proben aus Nigeria und Uganda, Elfenbeinküste, Madagaskar und Ghana (Abb. 28). Nur bei einigen Proben der Herkünfte Nigeria, Uganda, Elfenbeinküste, Brasilien, Sierra Leone und Sulawesi wurde ein Verhältnis größer als 4 berechnet. Diese Proben wiesen auch gleichzeitig einen pH-Wert größer pH 5,6, bzw. einen Essigsäuregehalt kleiner $4,2 \text{ mg g}^{-1} \text{ fTMM}$ auf.

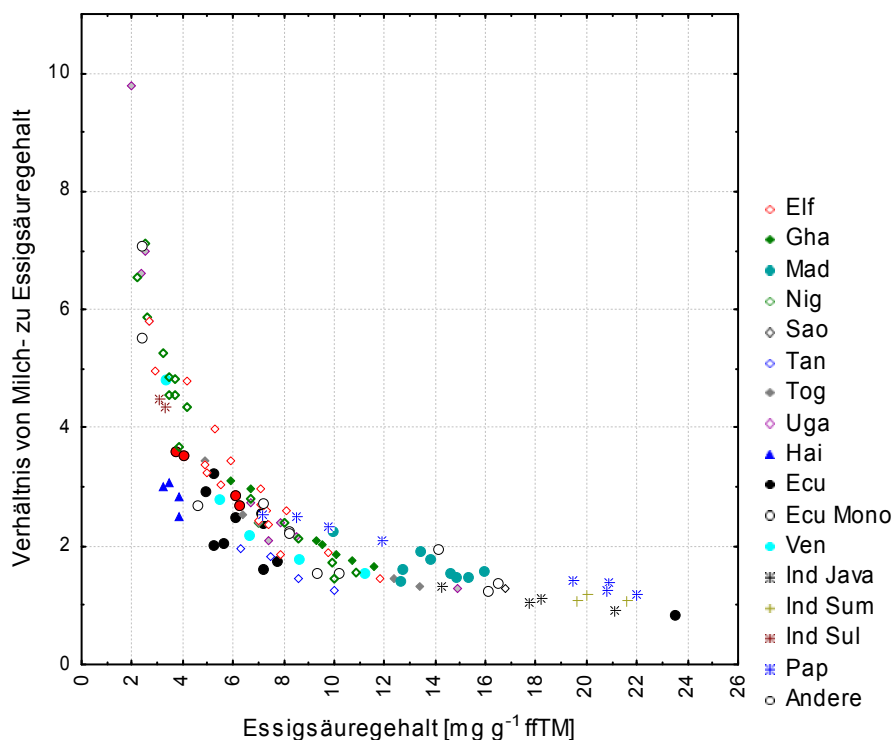


Abb. 28 Zusammenhang zwischen dem M/E-Verhältnis und dem Essigsäuregehalt

4.1.2.5 Zusammenfassung

Rohkakao unterschiedlicher Herkunft unterschied sich stark bezüglich seines pH-Wertes und des Essig- und Milchsäuregehaltes. Bei allen drei untersuchten Parametern unterschieden sich Proben der Herkünfte Papua-Neuguinea und Madagaskar mit relativ niedrigen pH-Werten und hohen Essig- und Milchsäuregehalten signifikant von denen aus Haiti und Ecuador mit hohen pH-Werten, niedrigen Essig- und niedrigen bis mittleren Milchsäuregehalten.

Einige Proben aus Nigeria, der Elfenbeinküste, Uganda und Sierra Leone zeichneten sich bei einem hohen pH-Wert und niedrigen Essigsäuregehalten durch einen hohen M/E-Wert aus.

Über das M/E-Verhältnis kann bei Proben mit vergleichbaren Essigsäuregehalten und pH-Werten fallweise eine herkunftsspezifische Differenzierung erfolgen, wie z. B. bei Proben aus Nigeria und Haiti.

4.1.3 Phenolische Substanzen

4.1.3.1 Gesamtphenolgehalt

Der Gesamtgehalt an phenolischen Substanzen der Proben lag zwischen 44,6 mg g⁻¹ ffTM und 139,5 mg g⁻¹ ffTM (MW 88,2 mg g⁻¹ ffTM SD 19,7) (Abb. 29). Die Berechnung des arithmetischen Mittelwertes ergab einen Wert von 88,2 mg g⁻¹ ffTM.

Bei 22% aller Proben lag der Gesamtphenolgehalt zwischen 100 und 139,46 mg g⁻¹ ffTM. 52% der Werte lagen in dem Bereich 75-100 mg g⁻¹ ffTM und weitere 26% in dem Bereich

von 75 bis 44,63 mg g⁻¹ ffTM. Die höchsten Gehalte von über 120 mg g⁻¹ ffTM wurden in Proben aus Sulawesi, Venezuela, Tansania, Ecuador und Haiti gemessen. Sehr niedrige Gehalte unter 75 mg g⁻¹ ffTM wurden bei Proben aus Ecuador, Uganda, Nigeria, Togo, Elfenbeinküste, den Salomonen, Madagaskar, Sumatra und Papua-Neuguinea festgestellt.

Die Ergebnisse der meisten Proben aus den afrikanischen Ländern Ghana, Nigeria, Togo, Uganda, Madagaskar und der Elfenbeinküste lagen im mittleren Wertebereich, wobei Proben aus Uganda tendenziell mit niedrigeren Werten auffielen. Einige südostasiatische Proben wie z. B. die indonesischen Proben aus Java und Sulawesi sowie die malayische Probe zeichneten sich durch hohe Gesamtgehalte an phenolischen Substanzen aus. Andere südostasiatische und pazifische Proben aus Sumatra, Papua-Neuguinea, den Salomonen und Vanuatu enthielten mittlere oder niedrigere Gehalte. Die Proben aus Ecuador wiesen die höchste Wertespanne auf, während Proben z.B. aus der Elfenbeinküste, Nigeria, Madagaskar und Papua-Neuguinea weniger stark variierten.

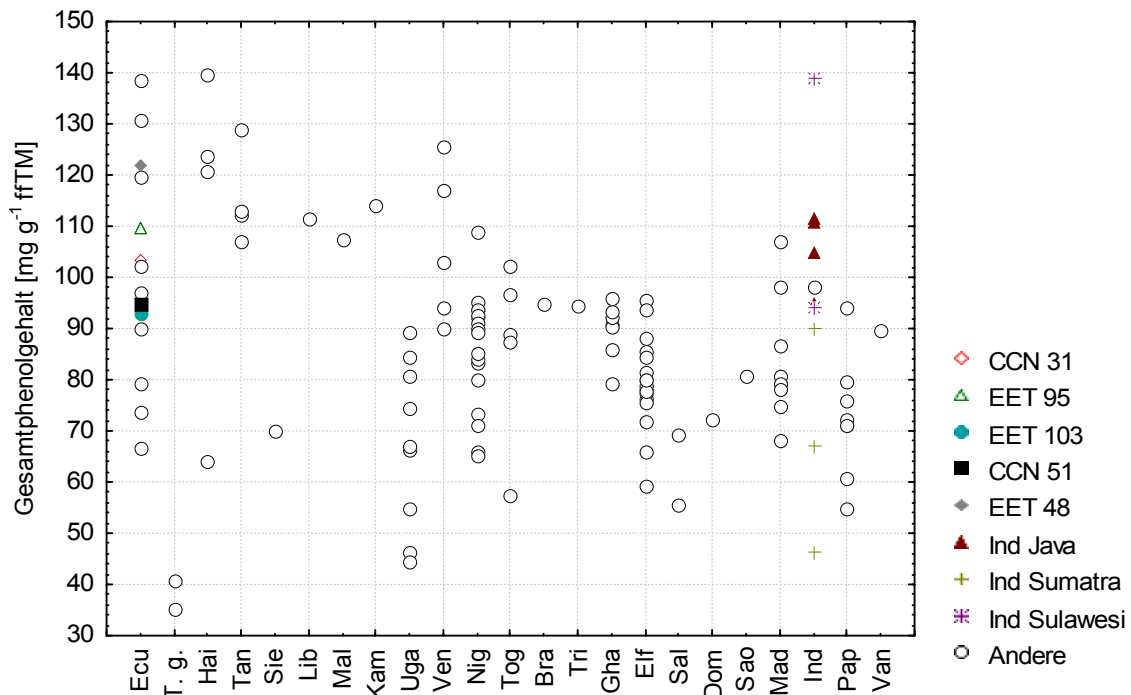


Abb. 29 Gesamtphenolgehalt der Rohkakaoproben
 Dargestellt sind die Gesamtphenolgehalte aller Proben sortiert nach Ländern. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

Um zu überprüfen, ob sich Proben unterschiedlicher Herkunft bezüglich ihres Polyphenolgehaltes unterscheiden, wurde eine einfaktorische Varianzanalyse mit anschließendem *post-hoc*-Test durchgeführt. Das Ergebnis verifiziert einen signifikanten Einfluss der Herkunft auf die Variable „Gesamtphenolgehalt“ ($F_{(12, 39)} = 3,47^*$ bei $p = 0,002$, *signifikant, SQ und MQ-Effekt siehe Anhang Tab. 25). Über den *post-hoc*-Test wurden signifikante Unterschiede

zwischen den Herkünften aus Uganda und Papua-Neuguinea einerseits und denen aus Ecuador, Haiti, Tansania, Venezuela und Java andererseits gefunden (Abb. 30).

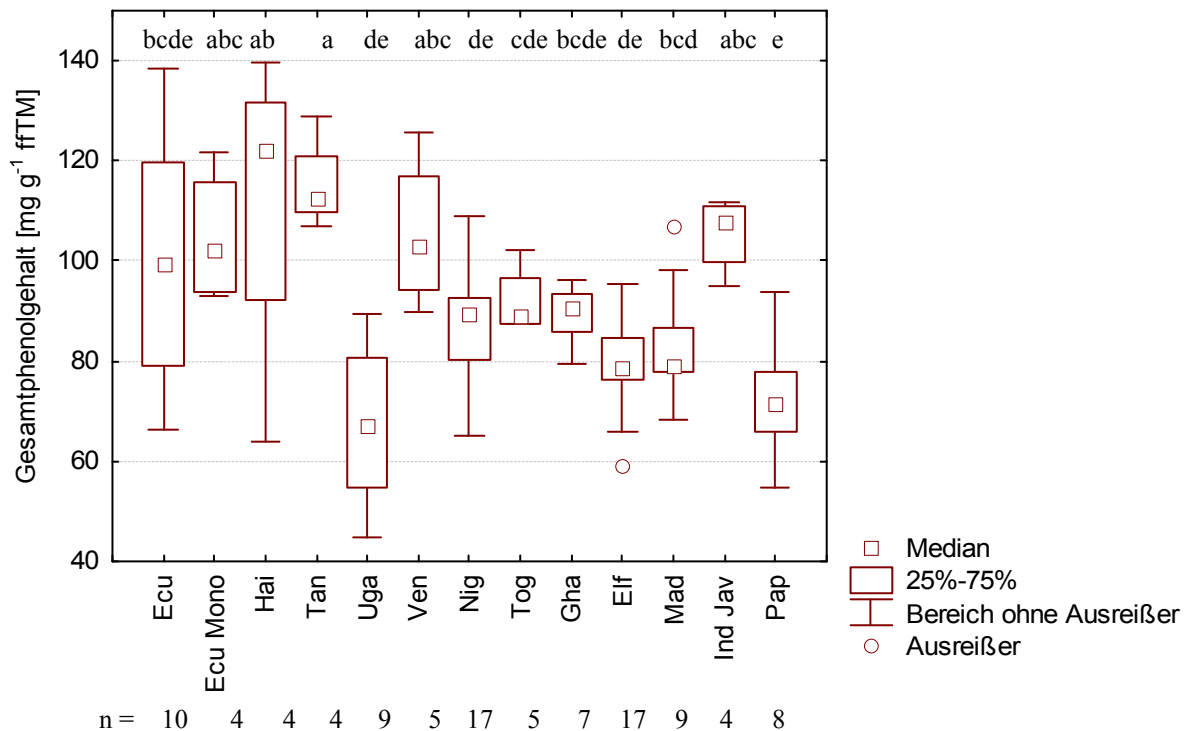


Abb. 30 Mittelwertvergleich: Gesamtphenolgehalt der Rohkakaoproben
 Darstellung der Mediane (\square), der 25-75-Perzentile und der Ausreißer ($^{\circ}$) für alle Herkünfte mit $n \geq 4$ unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ (*post-hoc*-Test: LSD-Test nach ANOVA, $n = 4$; bei Herkünften mit $n > 4$ wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

4.1.3.2 Epicatechingehalt

Der Epicatechingehalt der Proben schwankte zwischen 0,96 und 24,57 mg g⁻¹ fTm (MW 7,33 mg g⁻¹ fTm SD 4,1) (Abb. 31). Vom Gesamtphenolgehalt machte der Epicatechinanteil demnach nur ca. 8% bis maximal 17% aus.

Die Proben aus Haiti und Ecuador streuten über fast den gesamten Wertebereich, während die Proben aus Uganda, Nigeria, der Elfenbeinküste, Ghana, Venezuela und Papua-Neuguinea jeweils nur einen schmalen Wertebereich abdeckten (Abb. 31).

Proben aus Uganda, Papua-Neuguinea, Sumatra, den Salomonen und der Dominikanischen Republik lagen unterhalb des arithmetischen Mittelwertes des Epicatechingehaltes. Nur ein Drittel aller Proben wies Werte über 8 mg g⁻¹ fTm auf; zu diesen zählten alle Proben aus Tansania, Venezuela, Sulawesi und fast alle aus Ecuador und Haiti. Von den afrikanischen Proben hatten solche aus Uganda niedrigere Gehalte als solche aus Ghana, der Elfenbeinküste und Togo. Einige madagassische und nigerianische Proben wiesen höhere Gehalte auf, wobei

die Variationsbreite der Werte dieser Herkünfte größer als bei anderen afrikanischen Ländern war.

Indonesische Proben unterschieden sich stark hinsichtlich ihres Epicatechingehaltes. Proben aus Sulawesi zeichneten sich durch geringe Gehalte an Epicatechin, Proben aus Java durch mittlere Gehalte und Sumatraproben durch die höchsten Werte aus.

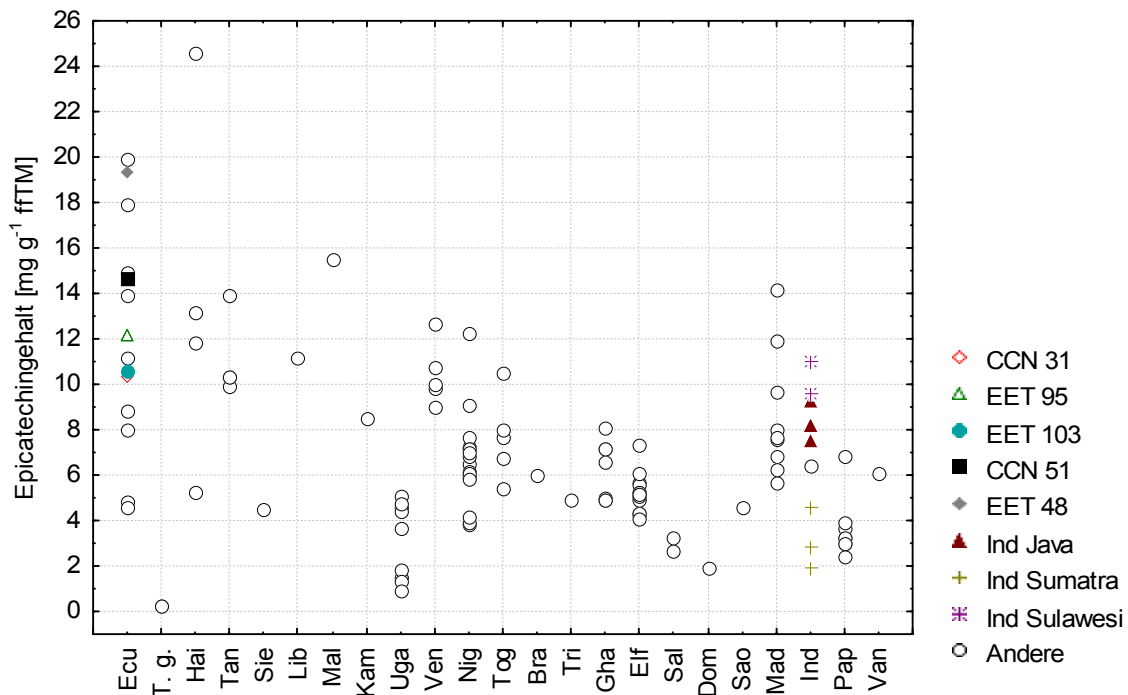


Abb. 31 Epicatechingehalte der Rohkakaoproben
 Dargestellt sind die pH-Werte aller Proben sortiert nach Ländern. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

Um zu überprüfen, ob sich Proben unterschiedlicher Herkunft bezüglich ihres Epicatechingehaltes unterscheiden, wurde eine einfaktorielle Varianzanalyse mit anschließendem *post-hoc*-Test durchgeführt. Das Ergebnis zeigte einen signifikanten Einfluss des Faktors Herkunft auf die Variable „Epicatechingehalt“ ($F_{(12, 39)} = 4,84^*$ bei $p = < 0,001$, *signifikant, SQ und MQ-Effekt siehe Anhang Tab. 25). Über den *post-hoc*-Test wurden signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte Uganda und Papua-Neuguinea zu den Herkünften Ecuador, Tansania, Haiti, Venezuela und Madagaskar gefunden; der Unterschied zu anderen afrikanischen Proben war statistisch nicht signifikant (Abb. 32). Im Gegensatz zu den Ergebnissen des vorgehenden Kapitels 4.1.2 unterscheiden sich die Proben aus Papua-Neuguinea bezüglich ihres Epicatechingehaltes nicht signifikant von Proben aus Java und Madagaskar; eine Tendenz zu niedrigeren Gehalten ist aber dennoch deutlich erkennbar.

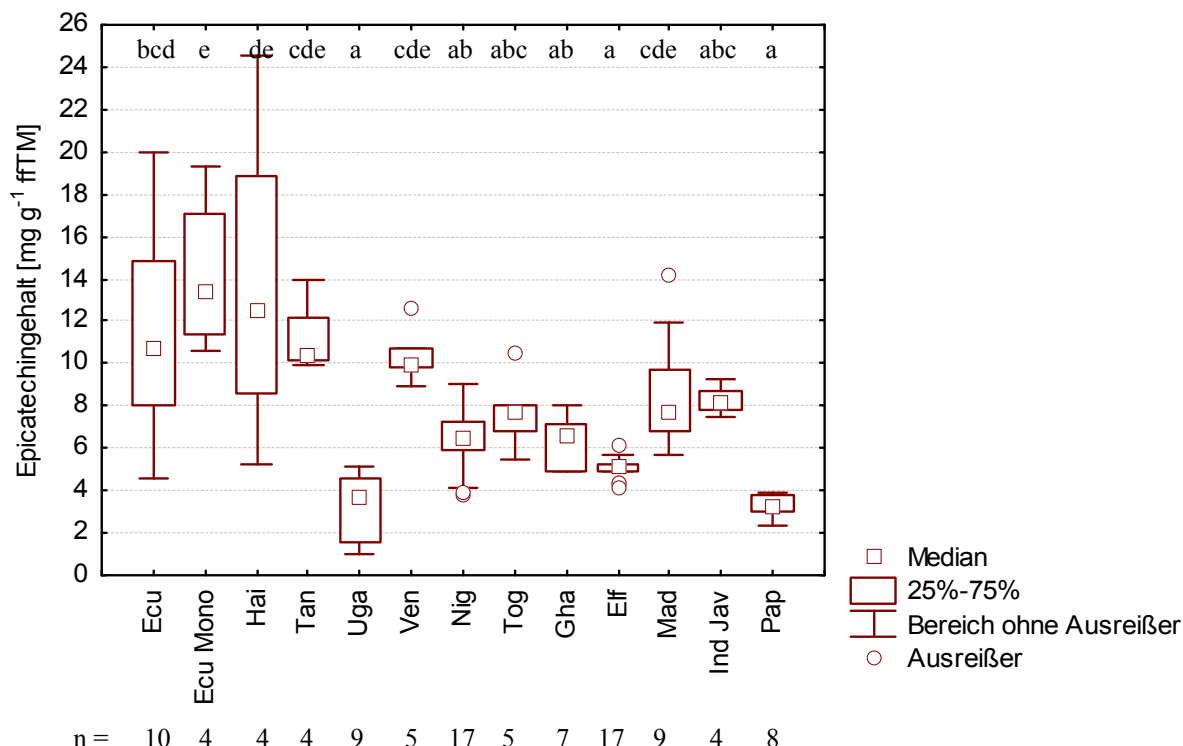


Abb. 32 Mittelwertvergleich: Epicatechingehalte der Rohkakaoproben
 Darstellung der Mediane (\square), der 25-75-Perzentile und der Ausreißer ($^{\circ}$) für alle Herkünfte mit $n \geq 4$ unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ (*post-hoc*-Test: LSD-Test nach ANOVA, $n = 4$; bei Herkünften mit $n > 4$ wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

4.1.3.3 Catechingehalt

Der Catechingehalte der Proben schwankte zwischen 0,2 und 0,85 mg g⁻¹ fTm (MW 0,21 mg g⁻¹ fTm SD 0,12) (Abb. 33). Im Mittel enthielten die Proben 0,21 mg g⁻¹ fTm, wobei die Probe Uga 6 den geringsten Wert von 0,05 mg g⁻¹ fTm und die Probe Mal 1 den höchsten Wert mit 0,84 mg g⁻¹ fTm aufwies.

Die Proben aus den Ländern Haiti, Java, Tansania, Madagaskar und Ecuador streuten sehr stark im Gegensatz zu Proben aus Ländern der Elfenbeinküste, Ghana, Togo, Nigeria, Venezuela und Papua-Neuguinea, die nur um $\pm 0,1$ mg g⁻¹ fTm schwankten.

Die höchsten Gehalte an Catechin wurden in Proben aus Java, Venezuela, Haiti, Malaysia, Vanuatu, Madagaskar, Ecuador sowie der Probe Tan 3 aus Tansania gemessen.

Anders als bei den Ergebnissen der Epicatechingehalte unterschieden sich Proben aus Java, Sulawesi und Sumatra bezüglich ihrer Catechingehalte nicht signifikant. Proben aus Java enthielten die höchsten Werte, und Proben aus Sumatra und Sulawesi wiesen mittlere bis niedrige Gehalte an Catechin auf.

Die Catechingehalte der *T. grandiflorum*-Proben sind nicht dargestellt. Die Werte lagen bei 7,14 mg g⁻¹ fTm (Bra 1) und 5,91 mg g⁻¹ fTm (Bra 2).

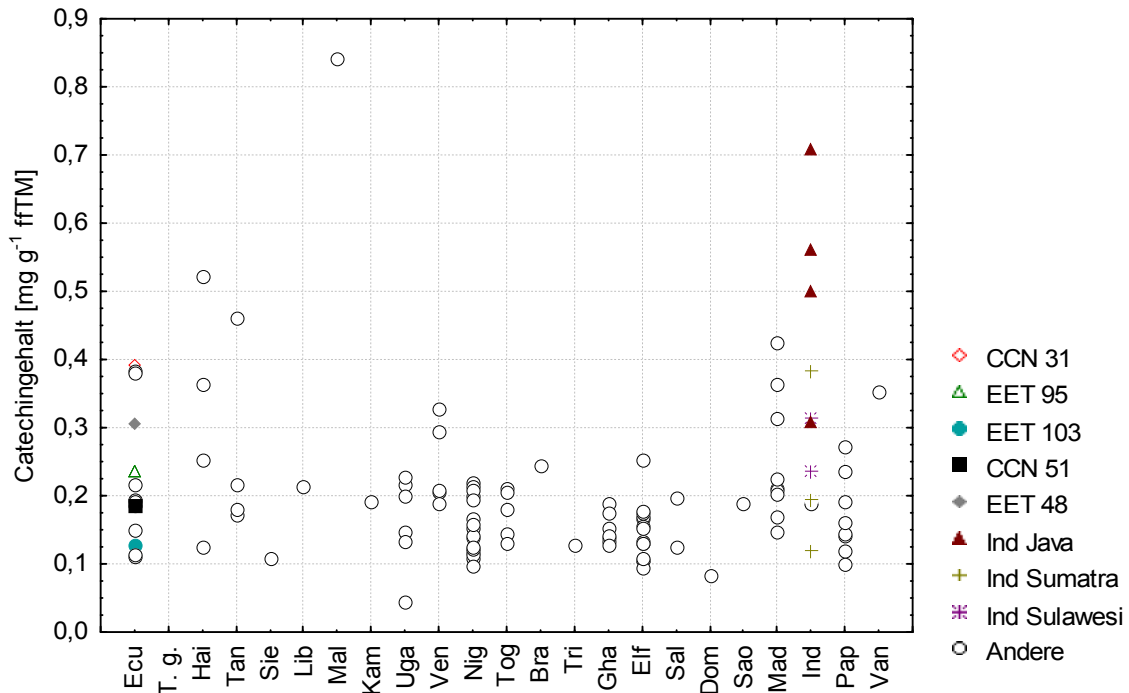


Abb. 33 Catechingehalte der Rohkakaoproben
 Dargestellt sind die Catechingehalte aller Proben sortiert nach Ländern. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

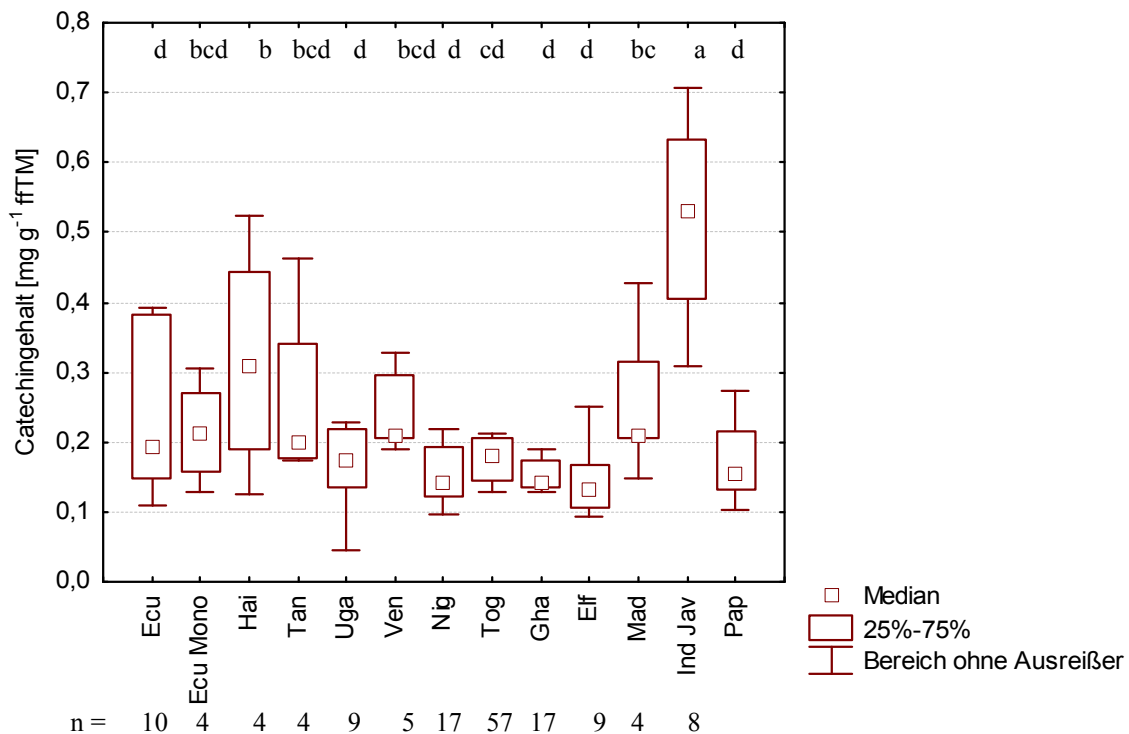


Abb. 34 Mittelwertvergleich: Catechingehalte der Rohkakaoproben
 Darstellung der Mediane (□), der 25-75-Perzentile und der Ausreißer (°) für alle Herkünfte mit $n \geq 4$ unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ (*post-hoc*-Test: LSD-Test nach ANOVA, $n = 4$; bei Herkünften mit $n > 4$ wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

Die Varianzanalyse zur Überprüfung des Herkunft-Effektes ergab einen signifikanten Einfluss des Faktors Herkunft auf die Variable „Catechingehalt“ ($F_{(12, 39)} = 5,44^*$ bei $p = < 0,0001$, *signifikant, SQ- und MQ-Effekt siehe Anhang Tab. 25). Bei der Auswertung des *post-hoc*-Testes wurden signifikante Unterschiede der Mittelwerte zwischen Java und allen anderen Herkünften mit $n > 4$ festgestellt (Abb. 34).

4.1.3.4 Antioxidatives Potenzial

Das Antioxidative Potenzial der Proben wurde mithilfe des TEAC-Testes ermittelt. Die Werte der Proben lagen zwischen 7,2 und 0,9 $\mu\text{mol Trolox}\text{\ddot{a}}\text{quivalenten (100 mg g}^{-1} \text{ ffTM mL}^{-1})^{-1}$.

Der größte Anteil der im Rohkakao vorhandenen antioxidativ wirkenden Substanzen stammt aus der Gruppe der phenolischen Substanzen. Es ist daher nicht unerwartet, dass die Ergebnisse der Untersuchungen auf das Antioxidativen Potenzials im Muster nahezu identisch mit denen der Epicatechingehalte und des Gesamtgehaltes an phenolischen Substanzen waren. Jedoch streuten die Werte der Proben stärker als die entsprechenden Epicatechingehalte und die Ergebnisse des Gesamtgehaltes an phenolischen Substanzen. Insbesondere bei den Proben aus Togo (Tog 1, 5), Ghana (Gha 1, 3-5), Nigeria (Nig 2, 3) und Uganda (Uga 2, 8, 9) gab es Auffälligkeiten: Hier enthielten jeweils eine Gruppe von Proben niedrigere TEAC-Werte als der Rest.

Die Varianzanalyse zur Überprüfung des Herkunft-Effektes ergab einen signifikanten Einfluss des Faktors Herkunft auf die Variable „Antioxidatives Potenzial“ ($F_{(12, 39)} = 5,68^*$ bei $p = < 0,0001$, *signifikant, SQ- und MQ-Effekt siehe Anhang Tab. 25). Bei der Auswertung des *post-hoc*-Testes wurden signifikante Unterschiede der Mittelwerte zwischen den Herkünften festgestellt (Abb. 34).

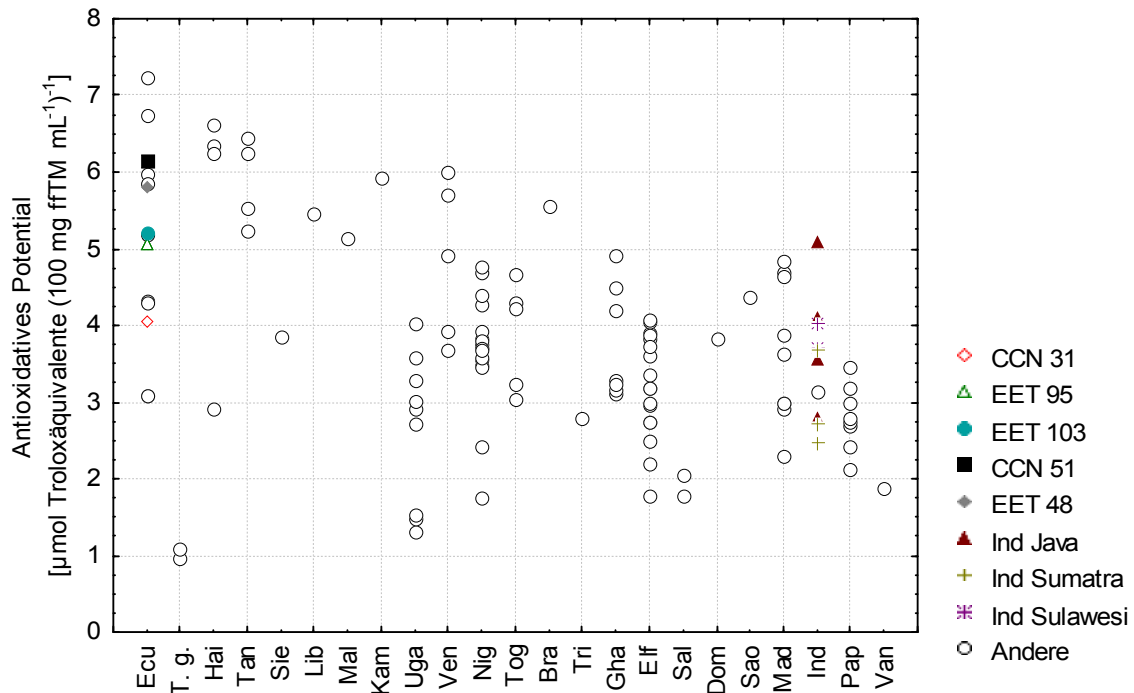


Abb. 35 Antioxidatives Potenzial der Rohkakaoproben
 Dargestellt ist das Antioxidative Potenzial aller Proben sortiert nach Ländern. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

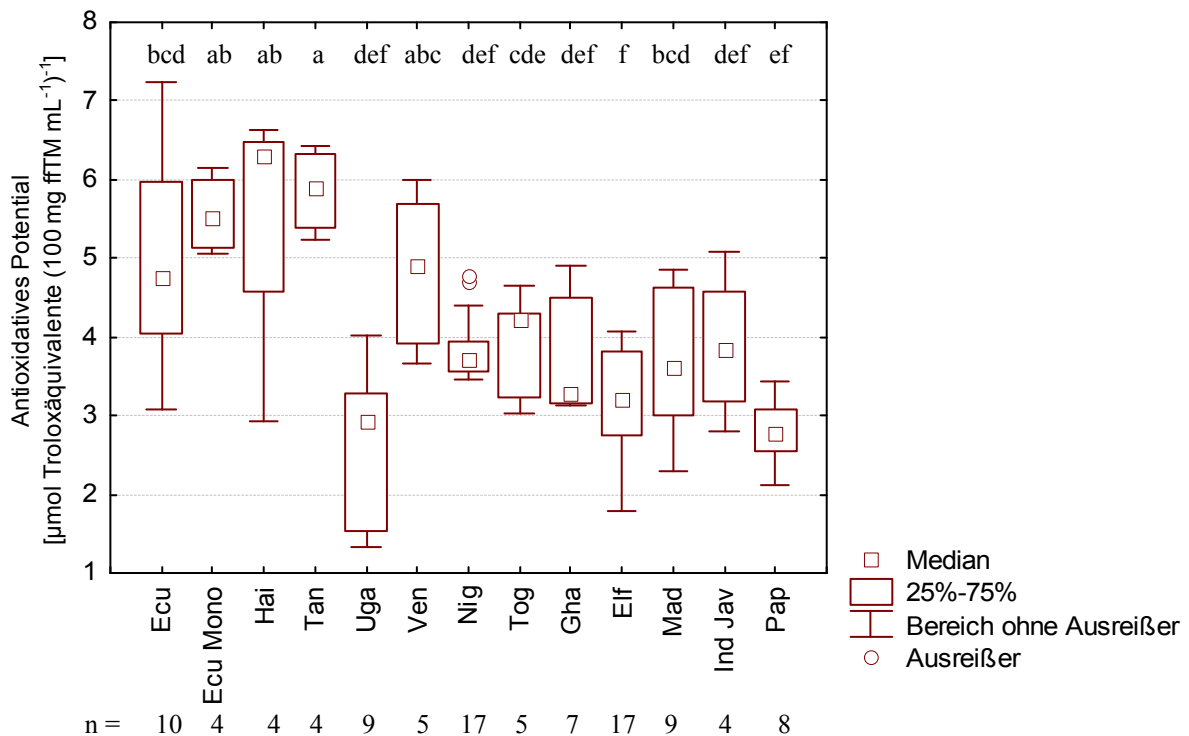


Abb. 36 Mittelwertvergleich: Antioxidatives Potenzial der Rohkakaoproben
 Darstellung der Mediane (□), der 25%-75-Perzentile und der Ausreißer (°) für alle Herkünfte mit $n \geq 4$ unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ (*post-hoc*-Test: LSD-Test nach ANOVA, $n = 4$; bei Herkünften mit $n > 4$ wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

4.1.3.5 Zusammenhänge zwischen Epicatechingehalt, Catechingehalt, Gesamtphenolgehalt und dem Antioxidativen Potenzial

Die Auswertung der Zusammenhänge zwischen Epicatechingehalt, Gesamtphenolgehalt und dem Antioxidativen Potenzial (TEAC-Wert) ergab positive Korrelationen mit Korrelationskoeffizienten zwischen $r = 0,72$ und $r = 0,82$. Der Zusammenhang zwischen dem Catechingehalt und den Variablen (Epicatechingehalt, Gesamtphenolgehalt und Antioxidatives Potenzial) ist mit $r < 0,57$ nur schwach. (Tab. 8).

Tab. 8 Korrelationsmatrix von Catechin- und Epicatechingehalt, Gesamtphenolgehalt und Antioxidativem Potenzial
Rot markierte Korrelationskoeffizienten r sind signifikant bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ ($n = 117$)

	Catechin- gehalt	Epicatechin- gehalt	Gesamtphenol- gehalt	Antioxidatives Potenzial
Catechingehalt	-	0,56	0,54	0,32
Epicatechingehalt		-	0,82	0,77
Gesamtphenolgehalt			-	0,72
Antioxidatives Potenzial				-

4.1.3.6 Zusammenfassung

Proben aus Ecuador (inkl. der Proben, die unter standardisierten Bedingungen fermentiert wurden: Ecu 5, 10-13), Haiti, Tansania sowie in geringerem Maße Proben aus Venezuela, Java und Madagaskar zeichneten sich durch hohe Antioxidative Potenziale und hohe Gehalte an Epicatechin und Gesamtphenolgehalte aus. Generell lagen bei Proben dieser Herkünfte auch die Catechingehalte höher als bei Proben anderer Herkünfte. Auffallend waren die sehr hohen Catechingehalte von Proben aus Java und Malaysia. Im Vergleich dazu wurden in Uganda- und Papua-Neuguineaproben mit Ausnahme der Catechingehalte statistisch signifikant niedrigere Werte dieser Parameter festgestellt.

Die Werte für den Gesamtphenolgehalt und teilweise die der Epicatechingehalte variierten sehr stark bei den Herkünften Ecuador, Haiti und Tansania.

4.1.4 Methylxanthine

4.1.4.1 Theobromingehalt

In den Proben aller Herkünfte wurden Theobromingehalte zwischen 18,2 und 35,1 mg g⁻¹ ffTM festgestellt (MW 28,0 mg g⁻¹ ffTM SD 4,37) (Abb. 37). Vergleichbar mit der großen Wertespanne der phenolischen Substanzen, streuten die Werte der Theobromingehalte der Proben aus Ecuador über fast den gesamten gemessenen Wertebereich, von 20,4 bis 33,9 mg g⁻¹ ffTM. Im Mittel lagen sie höher als die der Proben aus Madagaskar, Java und Papua-Neuguinea, welche eine ähnlich hohe Streuung aufwiesen.

Mit Ausnahme der Proben aus Madagaskar wiesen die Proben aller afrikanischen Länder Theobromingehalte größer als 26 mg g⁻¹ ffTM auf. Niedrigere Gehalte an Theobromin mit

Werten unter 24 mg g⁻¹ ffTM wurden in Proben aus Papua-Neuguinea, Madagaskar, Java, Sumatra, Malaysia und den Salomonen beobachtet. Proben einzelner Herkünfte lassen sich somit deutliche von anderen bezüglich der Theobromingehalte unterscheiden. Der Theobromingehalt der *T. grandiflorum*-Proben wurde nicht analysiert.

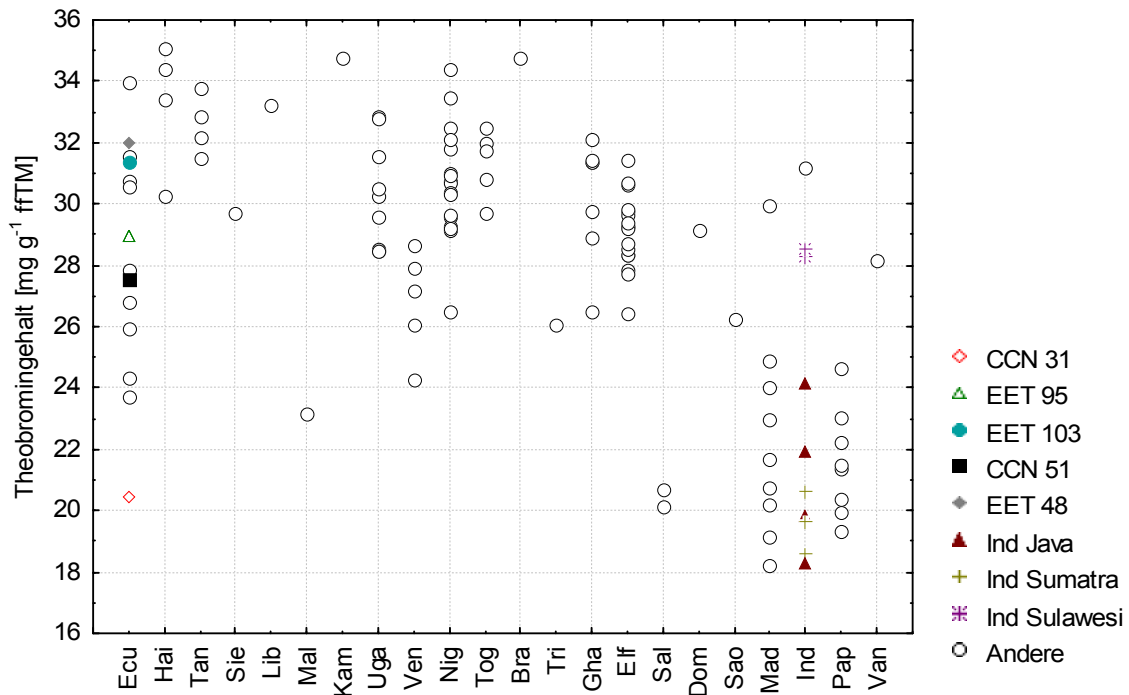


Abb. 37 Theobromingehalte der Rohkakaoproben
 Dargestellt sind die Theobromingehalte aller Proben, sortiert nach Ländern. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt. In Proben der Art *T. grandiflorum* wurden die Methylxanthine nicht analysiert.

Die Varianzanalyse nach ANOVA zur Überprüfung des Herkunft-Effektes ergab einen signifikanten Einfluss des Faktors Herkunft auf die Variable „Theobromingehalt“ ($F_{(12, 39)} = 15,62^*$ bei $p = < 0,0001$, *signifikant, SQ und MQ-Effekt siehe Anhang Tab. 25). Über den *post-hoc*-Test konnten im Mittelwertvergleich hinsichtlich der Theobromingehalte signifikante Unterschiede zwischen den Herkünften Java, Madagaskar und Papua-Neuguinea einerseits und allen anderen Herkünften andererseits nachgewiesen werden. Ausgenommen hiervon ist die Probenherkunft Venezuela, die sich nicht signifikant von der Herkunft Madagaskar unterschied (Abb. 38).

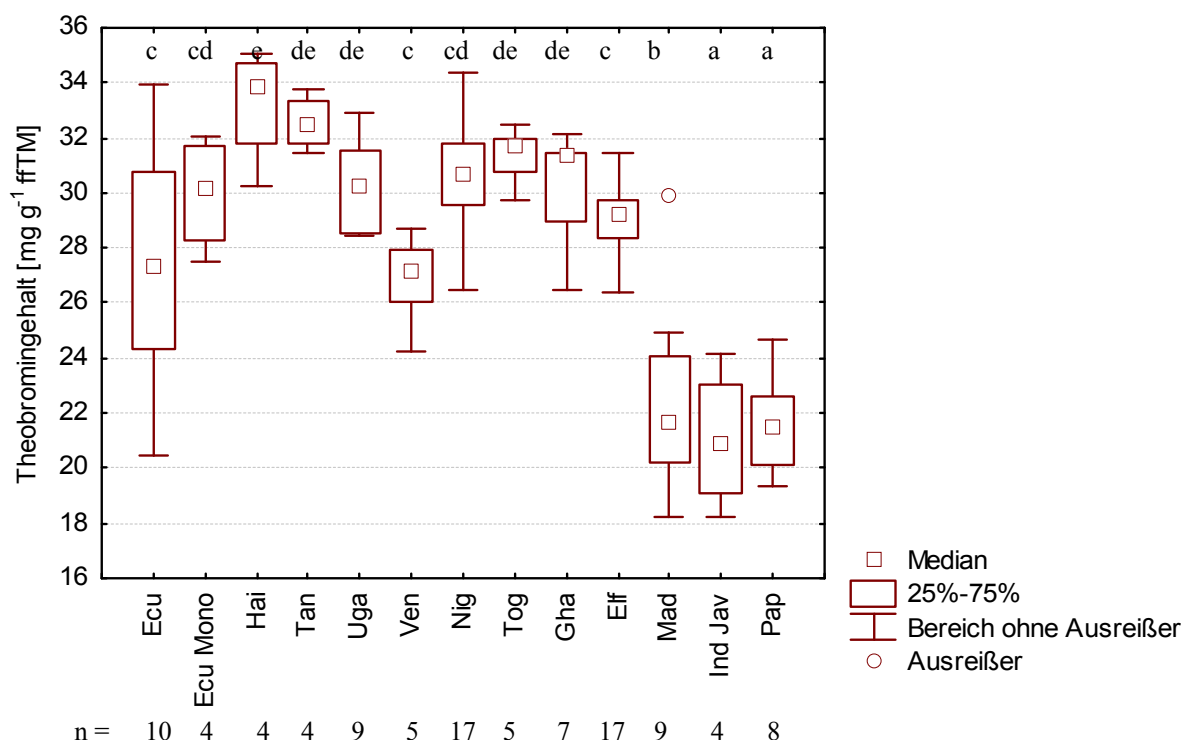


Abb. 38 Mittelwertvergleich: Theobromingehalte der Rohkakaoproben Darstellung der Mediane (□), der 25-75-Perzentile und der Ausreißer (°) für alle Herkünfte mit $n \geq 4$ unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ (*post-hoc*-Test: LSD-Test nach ANOVA, $n = 4$; bei Herkünften mit $n > 4$ wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

4.1.4.2 Coffeingehalt

Die Coffeingehalte lagen zwischen 1,0 und 8,3 mg g⁻¹ fFTM (MW 3,5 mg g⁻¹ fFTM SD 1,7) (Abb. 39).

Mit Ausnahme der Proben aus Ecuador war die herkunftsspezifische Streuung der Coffeingehalte sehr gering.

Sehr hohe Gehalte über 6,0 bis zu 8,3 mg g⁻¹ fFTM Coffein wurden nur in Proben aus Java, Venezuela, Ecuador und Trinidad beobachtet. Die Proben aus Java unterschieden sich damit deutlich von den anderen indonesischen Proben.

Im Mittelwertvergleich enthielten westafrikanische Proben aus den Ländern Elfenbeinküste, Ghana, Nigeria und Togo statistisch signifikant weniger Coffein als ostafrikanische Proben aus Madagaskar, Uganda und Tansania (Abb. 38). Der Coffeingehalt der *T. grandiflorum*-Proben wurde nicht analysiert.

Die Varianzanalyse zur Überprüfung des Herkunft-Effektes ergab einen signifikanten Einfluss des Faktors Herkunft auf die Variable „Coffeingehalt“ ($F_{(12, 39)} = 29,89^*$ bei $p = < 0,0001$, *signifikant, SQ und MQ-Effekt siehe Anhang Tab. 25). Über den anschließend durchgeführten *post-hoc*-Test wurden bei $p = 0,05$ signifikante Unterschiede der Herkünfte Ecuador, Venezuela und Java zu allen anderen untersuchten Herkünften nachgewiesen (Abb. 40).

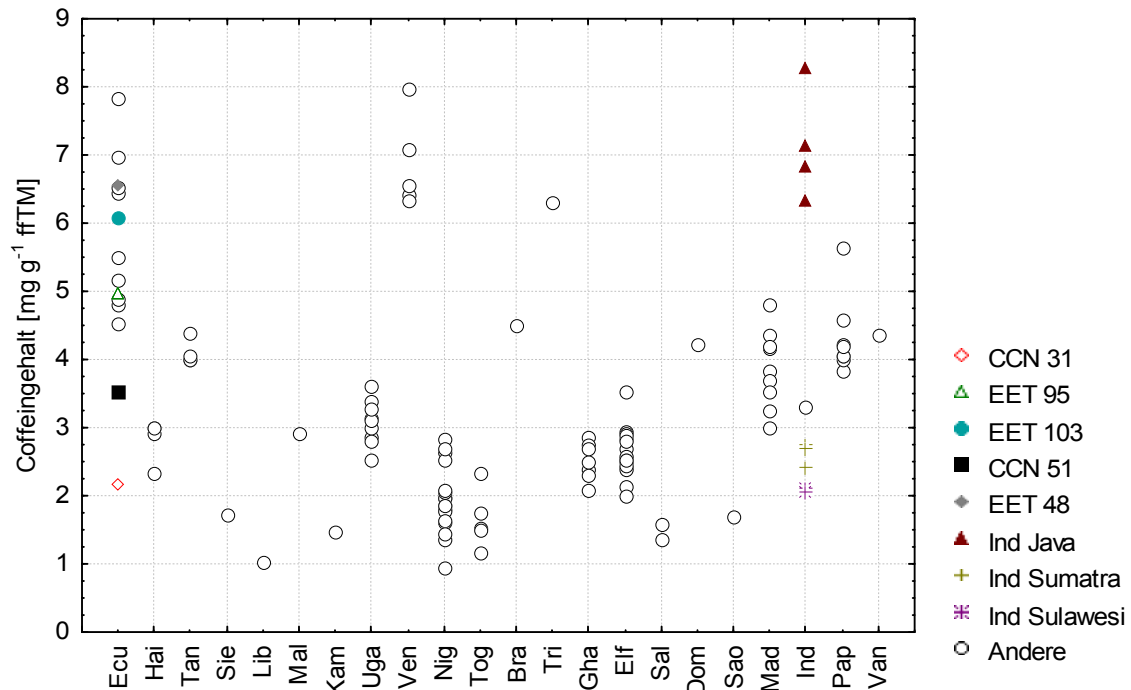


Abb. 39 Coffeingehalt der Rohkakaoproben
 Dargestellt sind die Coffeingehalte aller Proben sortiert nach Ländern. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt. In Proben der Art *T. grandiflorum* wurden die Methyloxanthine nicht analysiert

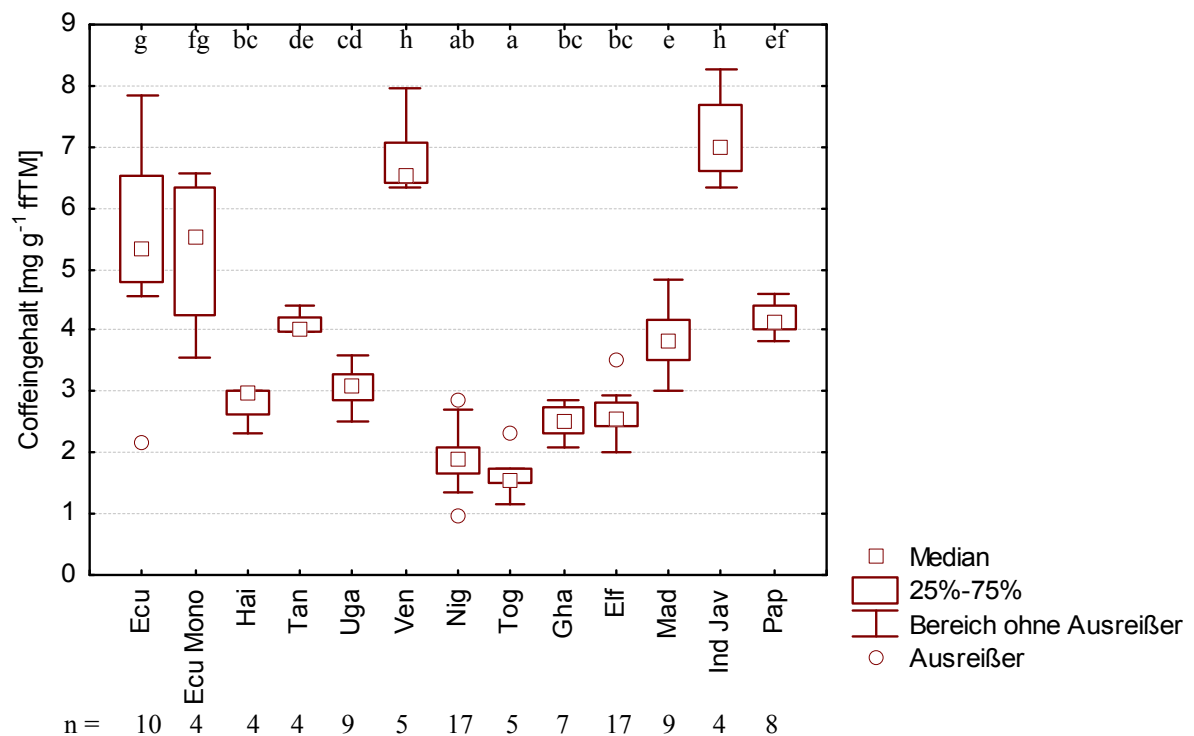


Abb. 40 Mittelwertvergleich: Coffeingehalte der Rohkakaoproben
 Darstellung der Mediane (□), der 25-75-Perzentile und der Ausreißer (°) für alle Herkünfte mit $n \geq 4$ unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ (*post-hoc*-Test: LSD-Test nach ANOVA, $n = 4$; bei Herkünften mit $n > 4$ wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

4.1.4.3 Quotient aus Theobromin- zu Coffeingehalt

Der Quotient aus Theobromin- zu Coffeingehalt (T/C) variierte zwischen Proben unterschiedlicher Herkunft sehr stark und lag zwischen 2,6 und 35 (Abb. 43).

Mit Ausnahme der unter standardisierten Bedingungen fermentierten Proben aus Ecuador (Ecu 5, 10-13) sowie der Proben aus Nigeria und Togo wurde eine sehr geringe Streuung dieses Quotienten pro Herkunft festgestellt.

Indonesische Proben konnten anhand dieses Verhältnisses sehr gut ihrer regionalen Herkunft zugeordnet werden: Proben aus Java waren durch sehr niedrige (2,7-3,4), Proben aus Sumatra durch mittlere (7,3-7,7) und Proben aus Sulawesi waren durch sehr hohe Werte (13,4-13,9) gekennzeichnet. Vergleichbar mit den Javaproben wiesen die meisten Proben der anderen Edelkakaobauenden Herkünfte, also Venezuela, Papua-Neuguinea, Madagaskar, Trinidad und Ecuador ebenfalls sehr niedrige Werte auf (unter 8).

Die Nigeriaproben stellten drei Gruppen dar: Nig 12, 14 mit hohen Werten > 20 , Nig, 3, 4, 6-12, 15-17 mit intermediären Werten und die Proben Nig 1, 2, 5, 13 mit sehr niedrigen Werten. Die Probe Elf 13 von der Elfenbeinküste wies einen deutlich höheren Wert auf als alle anderen Proben der Elfenbeinküste. Auch Proben aus Ghana können anhand des T/C-Verhältnisses in zwei Gruppen untergliedert werden: Gha 2, 6, 7 mit T/C-Verhältnissen unter 11 und Gha 1, 3-5 Werten über 12.

Über die Durchführung einer einfaktoriellen Varianzanalyse nach ANOVA wurde ein signifikanter Effekt der Herkunft hinsichtlich des Quotienten aus Theobromin- zu Coffeingehalt festgestellt ($F_{(12, 39)} = 35,20^*$ bei $p = < 0,0001$, *signifikant, SQ und MQ-Effekt siehe Anhang Tab. 25). Das Ergebnis des anschließend durchgeführten *post-hoc*-Testes ergab hinsichtlich des T/C-Quotienten signifikante Unterschiede zwischen den Herkünften, wobei u. a. Unterschiede zwischen den Proben aus Togo und Nigeria einerseits zu Proben von der Elfenbeinküste, aus Uganda, Tansania und Madagaskar andererseits nachgewiesen wurden (Abb. 42).

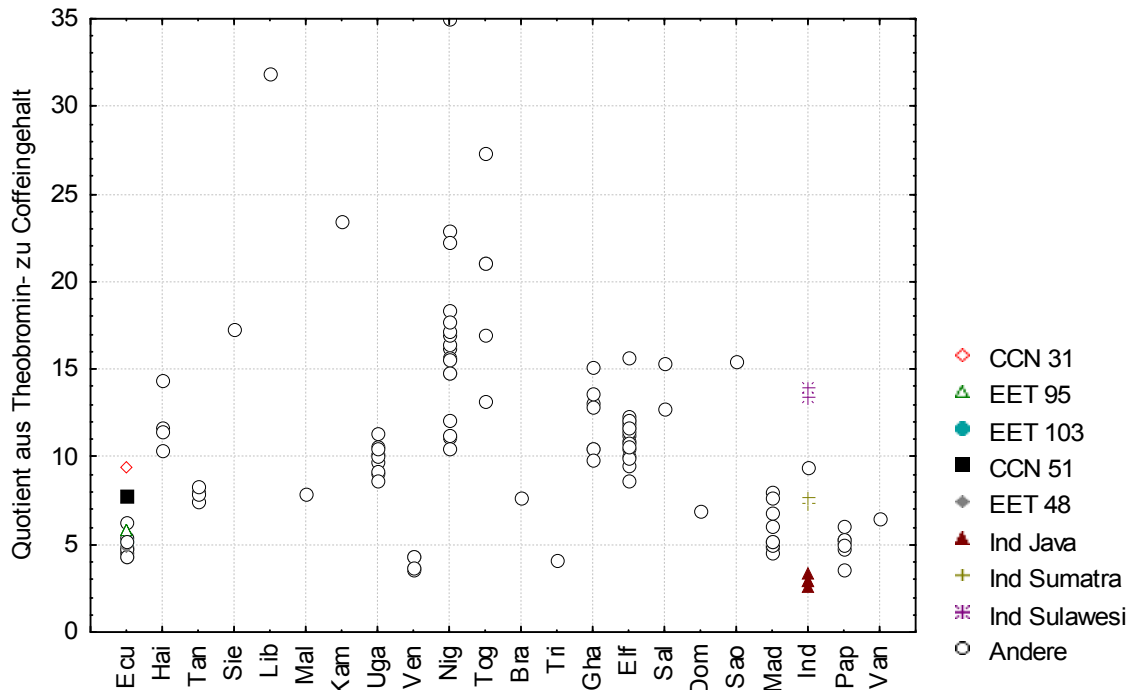


Abb. 41 Quotient aus Theobromin- zu Coffeingehalt der Rohkakaoproben
 Dargestellt ist der Quotient aus Theobromin- zu Coffeingehalt aller Proben sortiert nach Ländern. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

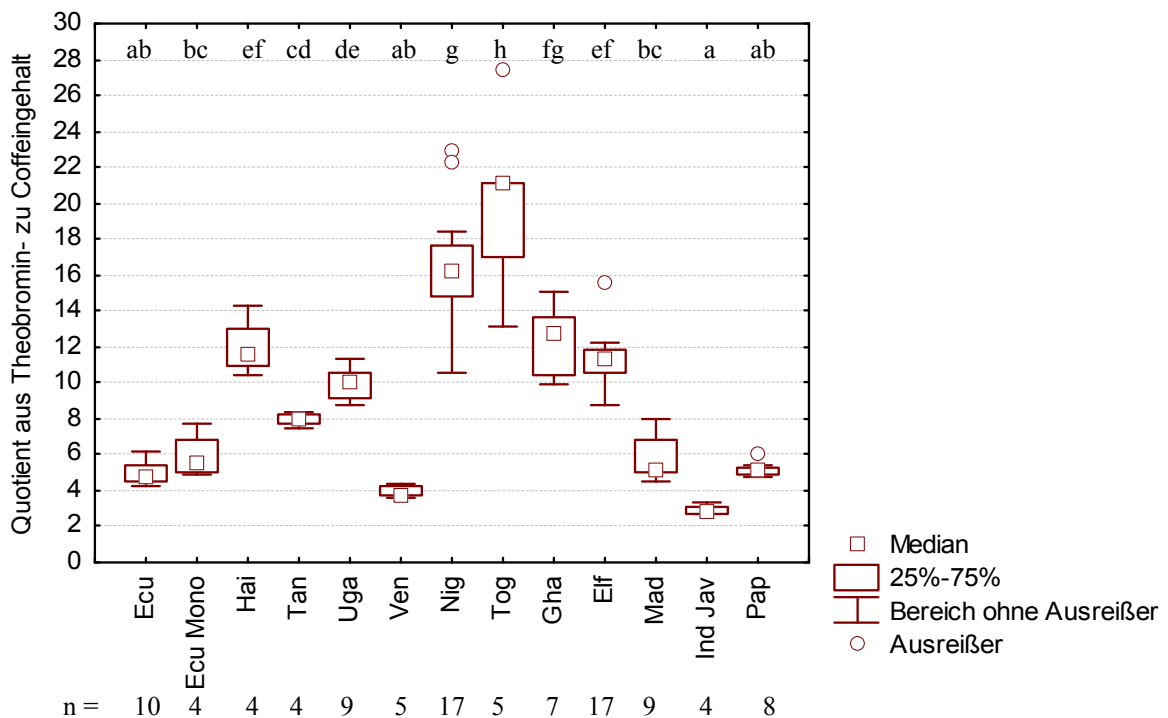


Abb. 42 Mittelwertvergleich: Quotient aus Theobromin- zu Coffeingehalt der Rohkakaoproben
 Darstellung der Mediane (□), der 25-75-Perzentile, der Ausreißer (°) und der Extremwerte (*) für alle Herkünfte mit $n \geq 4$ unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ (*post-hoc*-Test: LSD-Test nach ANOVA, $n = 4$; bei Herkünften mit $n > 4$ wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

Wie bereits in Kapitel 3.1.3 beschrieben, listet das Internationale Kakaoabkommen (Annex C) Länder auf, die vorzugsweise Edelkakao anbauen. Über den Zusammenhang von Coffeingehalt zu T/C-Verhältnis konnten Proben solcher Herkünfte, die Edelkakao anbauen, von Proben anderer Herkünfte grafisch getrennt werden (Abb. 43). Zusätzlich wurde auch bei den Proben Mal 1, Bra 1 und Van 1 ein T/C-Verhältnis kleiner 8 und gleichzeitig ein hoher Coffeingehalt (in der Regel größer 3 mg g⁻¹ ffTM) festgestellt. Tab. 9 gibt einen Überblick über alle untersuchten Herkünfte, dabei sind die in Annex C genannten Herkünfte und diejenigen, die ein T/C-Verhältnis < 8 aufweisen, markiert.

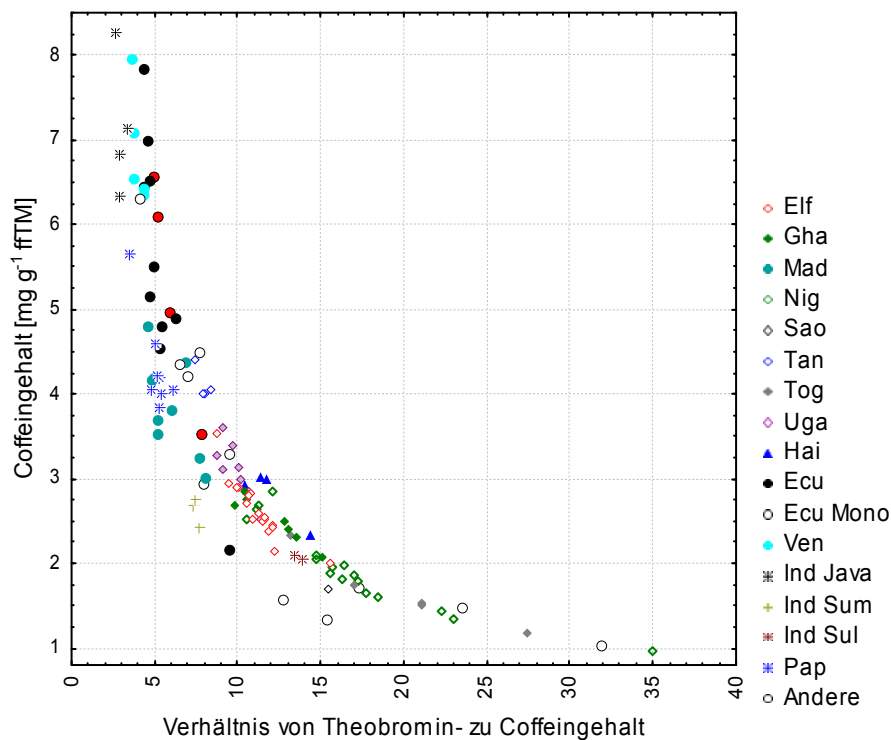


Abb. 43 Zusammenhang von Coffeingehalt und Quotienten aus Theobromin- zu Coffeingehalt Ohne die Werte der *T. grandiflorum* Proben, deren Coffeingehalt nicht ermittelt wurde

Tab. 9 Edelkakao anbauende Herkünfte laut Internationalem Kakaoabkommen Annex C, Einteilung über den Quotienten aus Theobromin- zu Coffeingehalt
 Herkünfte deren gesamte Proben ein T/C-Quotient > 8 aufwiesen, werden folgend in dieser Untersuchung als „Edelkakaos“ bezeichnet (mit einem ✓ markiert), Grau markiert sind Herkünfte, die nach Internationalem Kakaoabkommen als Edelkakao anbauende Herkünfte eingestuft sind.

Herkunft	Probenanzahl	Edelkakao, mit T/C < 8 und Coffeingehalt > 3 mg g ⁻¹ fTM
Brasilien	1 (2 <i>T. grandiflorum</i>)	✓
Dominikanische Republik	1	✓
Ecuador	14	✓
Elfenbeinküste	17	
Ghana	7	
Haiti	4	
Indonesien	10	✓ Nur Proben aus Java und Sumatra
Kamerun	1	
Liberia	1	
Madagaskar	9	✓
Malaysia	1	✓
Nigeria	17	
Papua-Neuguinea	8	✓
Salomonen	2	
São Tomé und Príncipe	1	
Sierra Leone	1	
Tansania	4	
Togo	5	
Trinidad und Tobago	1	✓
Uganda	9	
Vanuatu	1	✓
Venezuela	5	✓

4.1.4.4 Zusammenfassung

Die bereits in den vorangegangenen Kapiteln dargestellte häufige Ähnlichkeit der Proben aus Madagaskar, Java und Papua-Neuguinea bestätigte sich auch bei der Auswertung der Theobromingehalte. Wie schon für die Parameter Milchsäuregehalt, Gesamtphenolgehalt und Epicatechingehalt beschrieben, wiesen Ecuadorproben auch bezüglich ihrer Theobromin- und Coffeingehalte die größte Wertespanne auf. Genau das Gegenteil, eine sehr geringe Streuung der Ergebnisse der Ecuadorproben, wurde bei der Auswertung des Quotienten aus Theobromin- und Coffeingehalt beobachtet.

Über ihre hohen Coffeingehalte können die Proben aus Java gut von anderen indonesischen Herkünften differenziert werden. Auch ecuadorianische und venezolanische Proben wiesen sehr hohe Coffeingehalte auf, so dass sie von afrikanischen Proben unterschieden werden können.

Bei afrikanischen Proben wurde beobachtet, dass solche aus Westafrika generell niedrigere Coffeingehalte aufwiesen als ostafrikanische Proben. Dieser Befund verstärkt sich bei der Betrachtung des T/C-Verhältnisses: Hier wurden nur in Proben aus Nigeria, Togo, Liberia, Sierra Leone und Kamerun überdurchschnittlich hohe Quotienten nachgewiesen, während die Werte der ostafrikanischen Herkünfte Madagaskar, Uganda und Tansania insgesamt niedriger lagen.

Bei der Betrachtung des Zusammenhanges zwischen Coffeingehalt und T/C-Verhältnis konnten Proben der Edelkacao anbauenden Herkünfte von denen anderer Herkünfte unterschieden werden, da sie bei einem niedrigen T/C-Verhältnis (unter 8) in der Regel gleichzeitig einen hohen Coffeingehalt (größer $3 \text{ mg g}^{-1} \text{ ffTM}$) aufwiesen.

4.1.5 Gehalt an freien Aminosäuren, Stickstoff- und Rohproteingehalt

Der Gehalt an freien Aminosäuren (FAA) nimmt im Verlauf der Fermentation stark durch den enzymatischen Abbau der Speicherproteine zu. Da es sich bei den beteiligten Proteasen um eine Endoprotease (Aspartylendoprotease) und um eine Exopeptidase (Carboxypeptidase) handelt, welche unterschiedliche pH-Optima und Substratspezifitäten aufweisen, ändert sich im Verlauf der Fermentation auch die relative Zusammensetzung der freien Aminosäuren. Nach AMIN *et al.* (2002) ist der Gehalt und die Zusammensetzung der Speicherproteine frischer Kakaosamen vom Genotyp unabhängig. Ob es genotypspezifische Unterschiede in den Enzymgehalten und den Aktivitäten der Proteasen gibt, ist jedoch unbekannt. Der enzymatische Abbau und damit die Akkumulation von freien Aminosäuren hängt von den Bedingungen während der Fermentation ab.

4.1.5.1 Gesamtgehalt an freien Aminosäuren

Der Gehalt an freien Aminosäuren (FAA) der Proben lag zwischen $5,0$ und $25,2 \text{ mg g}^{-1} \text{ ffTM}$ (MW $13,0 \text{ mg g}^{-1} \text{ ffTM}$ SD $4,7$) (Abb. 44).. Entsprechend ihren FAA-Gehalten wurden die Proben in drei Gruppen eingeteilt: Proben der Länder mit Mittelwerten unter $8,8 \text{ mg g}^{-1} \text{ ffTM}$, Proben der Länder mit Mittelwerten zwischen $8,8$ und $14 \text{ mg g}^{-1} \text{ ffTM}$ sowie Proben der Länder mit Mittelwerten über $14 \text{ mg g}^{-1} \text{ ffTM}$.

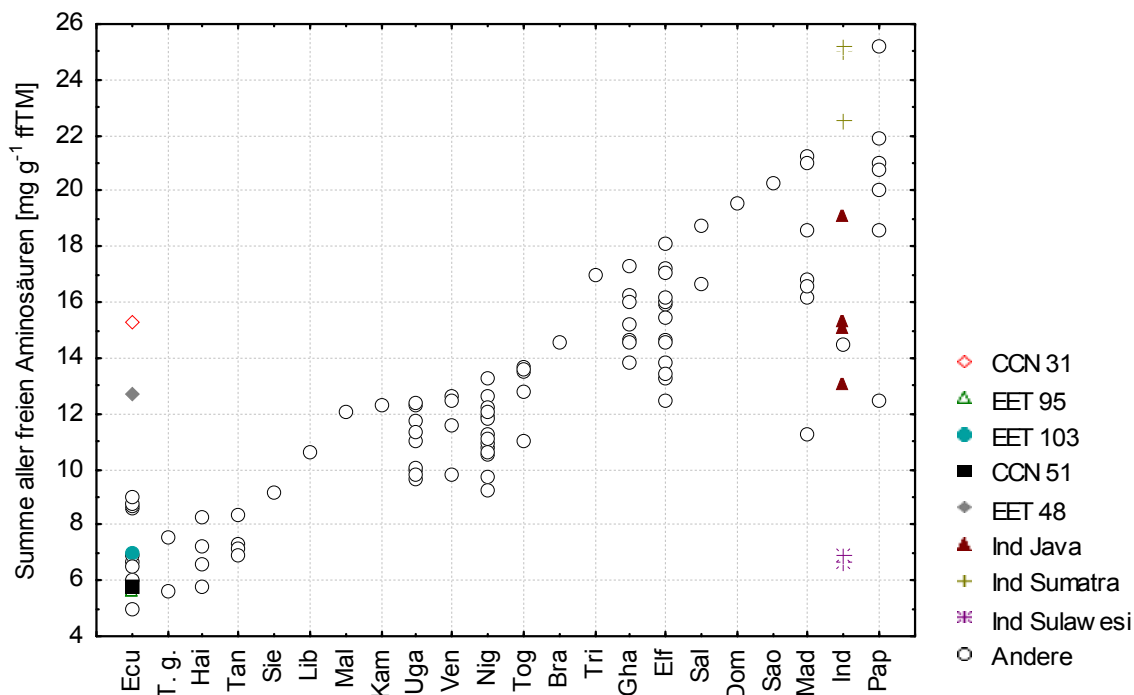


Abb. 44 Summe der freien Aminosäuren (außer GABA) der Rohkakaoproben
 Dargestellt ist die Summe der freien Aminosäuren (außer GABA) jeder Probe. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

Geringe FAA-Gehalte (mit Mittelwerten zwischen 5,8 und 8,8 mg g⁻¹ fFTM) wurden in den Proben aus Ecuador (5,0-9,0 mg g⁻¹ fFTM, die Probe Ecu 5, also der Genotyp CNN 31 enthielt 15,2 mg g⁻¹ fFTM, die Proben Ecu 10-13 zwischen 5,6 und 12,6 mg g⁻¹ fFTM), Haiti (5,8-8,3 mg g⁻¹ fFTM), Tansania (6,9-8,4 mg g⁻¹ fFTM) und Sulawesi (6,7-6,9 mg g⁻¹ fFTM) beobachtet (Abb. 44).

Betrachtet man die Ergebnisse der unter standardisierten Bedingungen fermentierten Proben mit bekanntem Genotypmaterial aus Ecuador, so fällt auf, dass die Probe des Genotyps EET 48 mit 12,7 mg g⁻¹ fFTM im Vergleich zu den Proben der anderen Genotypen (EET 95, EET 103, CCN 51 mit 5,6, 6,9 und 5,7 mg g⁻¹ fFTM) etwa die doppelte Menge freier Aminosäuren enthielt, obwohl sie gleich fermentiert wurde. Eine weitere Probe aus Ecuador, nämlich die Probe CCN 31, wies ebenfalls höhere FAA-Gehalte auf als die anderen Arribaproben.

Mittlere FAA-Gehalte zwischen 8,8 und 14 mg g⁻¹ fFTM wurden in den afrikanischen Proben der Länder Sierra Leone, Liberia, Kamerun, Uganda, Nigeria und Togo gemessen. Proben der wichtigsten Rohkakaoproduzenten Elfenbeinküste und Ghana enthielten mit Mittelwerten von 15,4 und 15,2 mg g⁻¹ fFTM höhere Mengen an freien Aminosäuren (Min.-Max. Werte von 13,8-17,3 und 12,4-18,1 mg g⁻¹ fFTM). Zu der Gruppe mit den höchsten FAA-Gehalten (15,0-24,3 mg g⁻¹ fFTM) gehören außerdem die Proben der Herkünfte Java und Sumatra (Indonesien) und die Proben von den Salomonen, aus der Dominikanischen Republik, São Tomé, Madagaskar und Papua-Neuguinea. Hinzuweisen ist hier auf die extrem

hohen Werte der Proben aus Sumatra (Indonesien) und Papua-Neuguinea (die Werte der Proben Pap 2 und Ind 8 lagen bei 25,2 mg g⁻¹ ffTM).

Die FAA-Gesamtgehalte der Proben aus den Herkunftsnigeria (9,2-13,3 mg g⁻¹ ffTM), Uganda (9,7-12,4 mg g⁻¹ ffTM) und Ghana (13,8-17,3 mg g⁻¹ ffTM) streuten nur wenig.

Hingegen streuten die Werte für Proben der Herkunftsnigeria (6,7-25,2 mg g⁻¹ ffTM), Madagaskar (11,2-21,3 mg g⁻¹ ffTM) und Papua-Neuguinea (12,4-25,2 mg g⁻¹ ffTM) sehr stark. Indonesische Proben konnten entsprechend ihrer Regionen unterschieden werden: Sulawesiproben enthielten 6,7-6,9 mg g⁻¹ ffTM, Sumatraproben 22,5-25,2 mg g⁻¹ ffTM und Proben aus Java 13,0-19,1 mg g⁻¹ ffTM; eine weitere indonesische Probe ohne Information zur Herkunft wies 14,5 mg g⁻¹ ffTM FAA auf.

Ob der Effekt der Herkunft auf die Ausprägung des Gehaltes an freien Aminosäuren bei anderen Herkunftsnigeria signifikant ist, wurde anhand einer einfaktoriellen Varianzanalyse mit anschließendem *post-hoc*-Test analysiert. Das Ergebnis verifiziert einen Einfluss der Herkunft auf diese Variable ($F_{(12, 39)} = 11,93^*$ bei $p < 0,0001$, *signifikant, SQ und MQ-Effekt siehe Anhang Tab. 25). Weiterhin bestätigt der *post-hoc*-Test signifikante Unterschiede der Mittelwerte von Proben unterschiedlicher Herkunft insbesondere zwischen den drei genannten Gruppen mit niedrigen, mittleren und hohen Gehalten an FAA (Abb. 45).

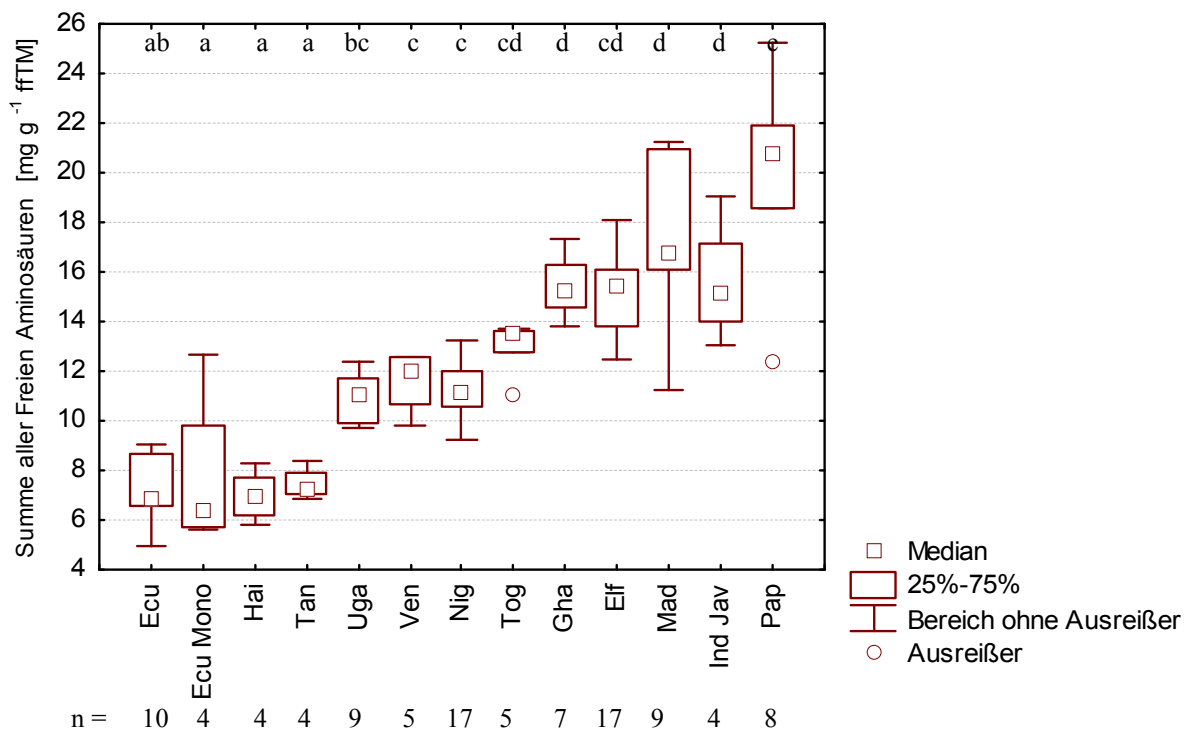


Abb. 45 Mittelwertvergleich: Summe an freien Aminosäuren (außer GABA) von Rohkakao Darstellung der Mediane (□), der 25-75-Perzentile und der Ausreißer (°) für alle Herkunftsnigeria mit n ≥ 4 unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Herkunftsnigeria bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von p < 0,05 (*post-hoc*-Test: LSD-Test nach ANOVA, n = 4; bei Herkunftsnigeria mit n > 4 wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

4.1.5.2 Verteilung der freien Aminosäuren

Die Gehalte einzelner freier Aminosäuren lagen zwischen 0 und maximal 3,9 $\mu\text{g g}^{-1}$ ffTM. Von allen gemessenen freien Aminosäuren wiesen Leucin, Phenylalanin, Lysin und Alanin sowohl die höchsten Werte als auch die höchsten Standardabweichungen auf (Abb. 46, Anhang Tab. 19).

Von einigen Aminosäuren wurden nur Spuren detektiert (Methionin, Tryptophan, teilweise Glycin, sowie die als Summe ausgewerteten Aminosäuren Glutamin und Histidin).

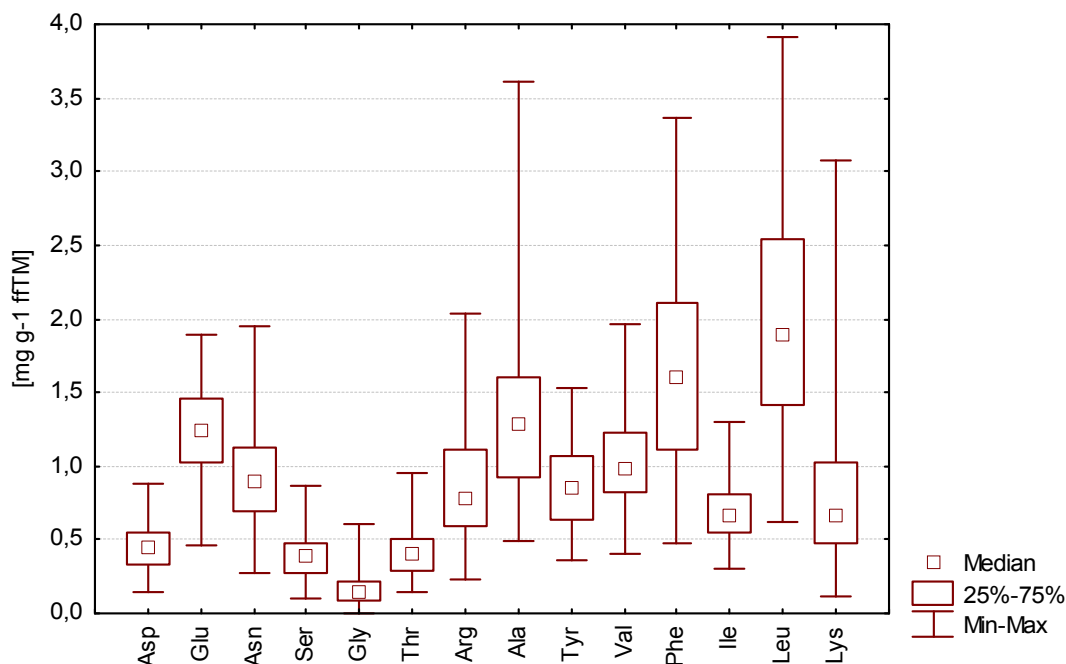


Abb. 46 Mittelwertvergleich ausgewählter Aminosäuren
Darstellung der Mediane (□), der 25-75-Perzentile und der Minimum- (Min) und Maximumwerte (Max) für ausgewählte Aminosäuren

Die Gehalte fast aller FAA waren positiv miteinander korreliert. Eine Ausnahme bildeten einige sauer reagierende Aminosäuren und diejenigen FAA, die nur in Spuren (Gehalte unter 0,3 mg g^{-1} ffTM) vorkamen. Um Wiederholungen bei der Darstellung der Ergebnisse zu vermeiden, wurden die Ergebnisse der proteinogenen FAA entsprechend der von Kirchhoff (1993) vorgeschlagenen Einteilung folgendermaßen gruppiert:

- Gruppe 1. Alanin, Leucin, Phenylalanin, Tyrosin, Valin, Isoleucin (hydrophob reagierende Aminosäuren, folgend als „hydrophobe“ bezeichnet)
- Gruppe 2. Asparagin, Asparaginsäure, Glutamin, Glutaminsäure, Histidin (sauer reagierende Aminosäuren, folgend als „saure“ bezeichnet)
- Gruppe 3. Tryptophan, Lysin, Serin, Glycin, Arginin, Threonin (Aminosäuren die nicht in Gruppe 1 und 2 gehören und folgend als „andere“ bezeichnet werden)

Die Besprechung der Ergebnisse erfolgt separat für jede Gruppe. Anschließend werden die verschiedenen Aminosäuregruppen beispielhaft anhand je einer Aminosäure (Alanin aus Gruppe 1, Asparaginsäure aus Gruppe 2 und Threonin aus Gruppe 3) dargestellt: alle anderen

Einzelwerte sind in der Tab. 25 im Anhang aufgelistet. Ausgenommen hiervon ist die nicht proteinogene Aminosäure GABA, welche in Kapitel 4.1.5.7 „ γ -Aminobuttersäure“ gesondert betrachtet wird.

Die Mittelwerte und die Verteilung der FAA für jede Herkunft sind in Abb. 47 bis Abb. 52 dargestellt. Dabei zeigte sich, dass die Unterschiede zwischen den Proben insbesondere durch Unterschiede zwischen dem Summenanteil an „hydrophoben“ und „anderen“ FAA bedingt wurden und weniger durch Unterschiede zwischen den Summengehalten der „sauen“ FAA. Wie bereits dargestellt unterschieden sich Proben verschiedener Herkünfte zum Teil erheblich. Die Proben der westafrikanischen Länder wiesen alle ein sehr einheitliches Muster auf, in anderen Herkunftsgruppen wie Madagaskar, Ecuador (Ecu 5 als „Ausreißer“), Papua-Neuguinea und Indonesien gab es zwischen einzelnen Proben sehr deutliche Unterschiede in der Aminosäurezusammensetzung.

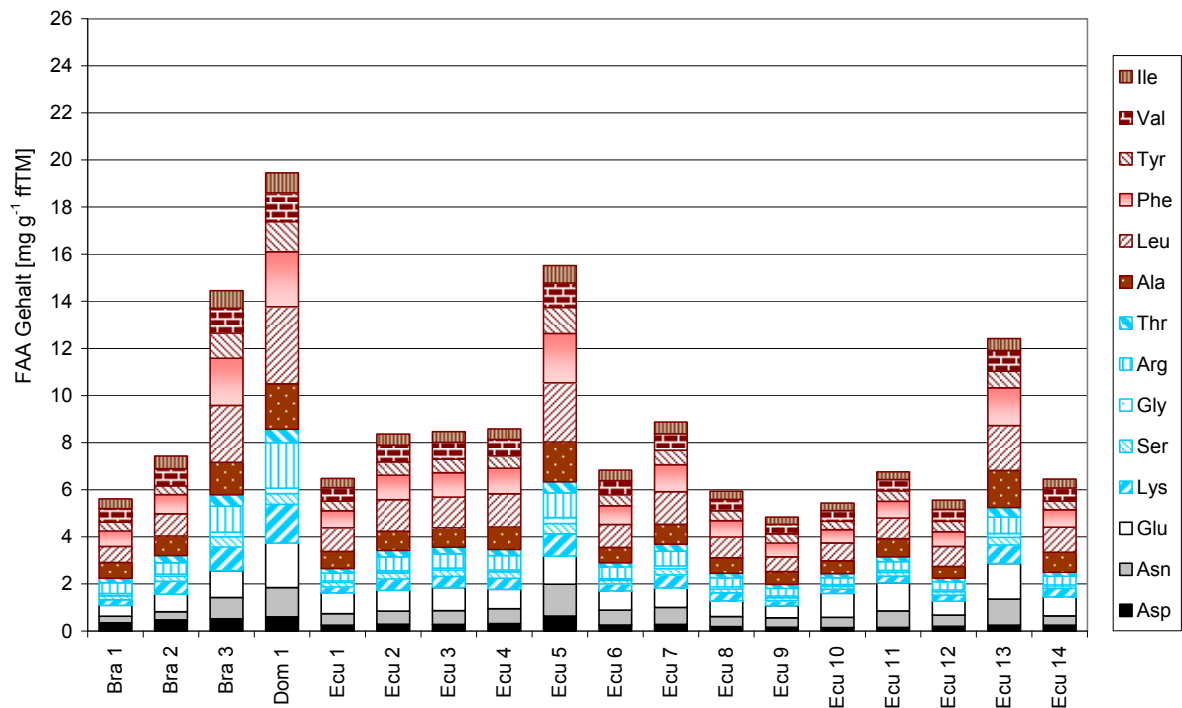


Abb. 47 FAA-Gehalte der Proben aus Brasilien, der Dominikanischen Republik und Ecuador
 Farbgebung: Gruppe der „sauen“ FAA schwarz-grau-weiße Farben, Gruppe der „anderen“ FAA
 blaue Farben, Gruppe der „hydrophoben“ FAA rote Farben. Fehlerbalken stellen die
 Standardabweichungen dar.

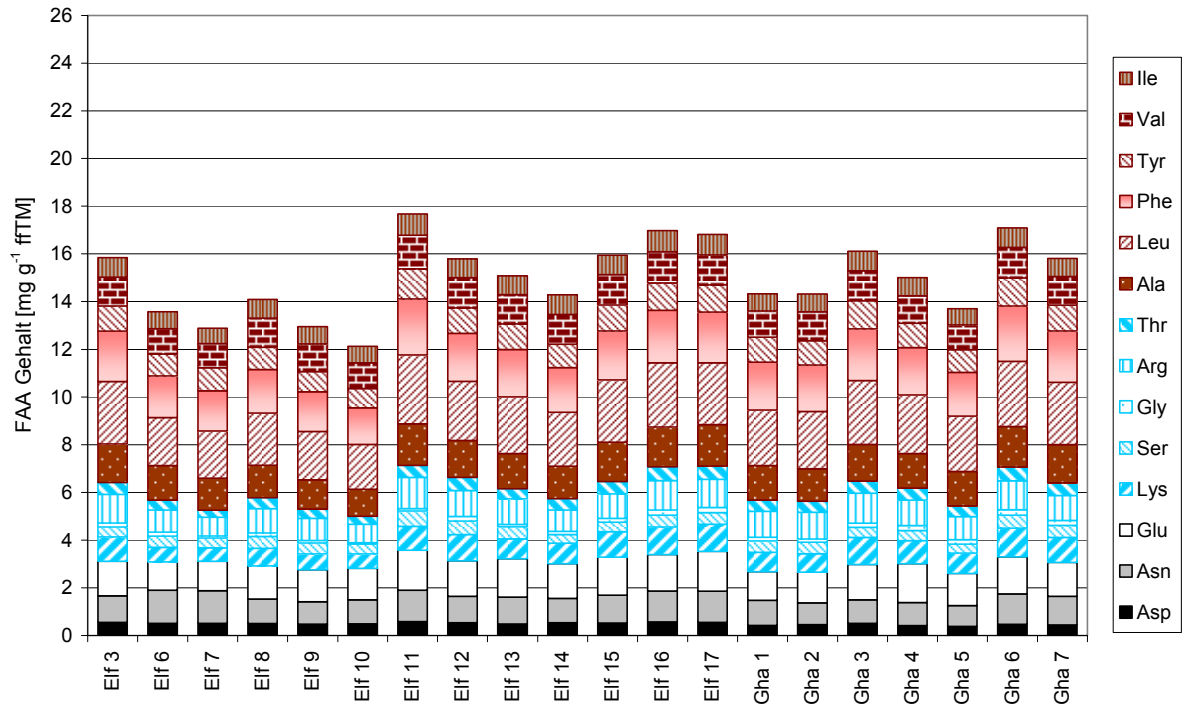


Abb. 48 FAA-Gehalte der Proben von der Eifenbeinküste und aus Ghana
 Farbgebung: Gruppe der „sauren“ FAA schwarz-grau-weiße Farben, Gruppe der „anderen“ FAA blaue Farben, Gruppe der „hydrophoben“ FAA rote Farben. Fehlerbalken stellen die Standardabweichungen dar.

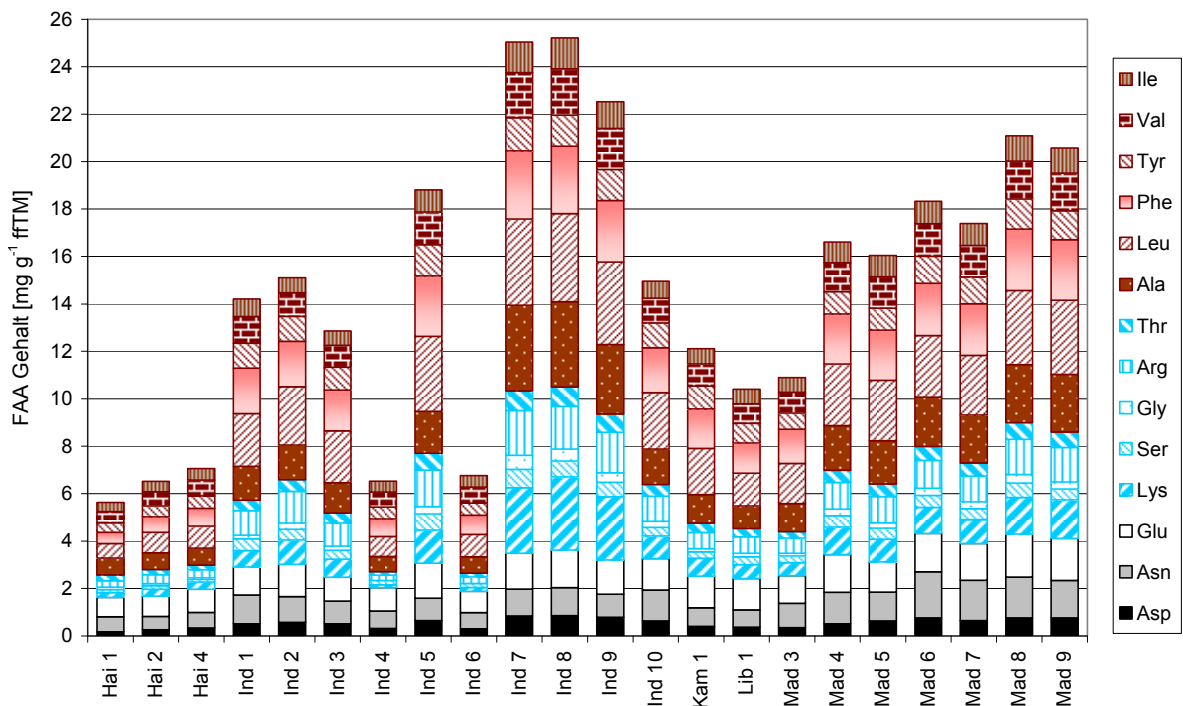


Abb. 49 FAA-Gehalte der Proben aus Haiti, Indonesien, Kamerun, Liberia und Madagaskar
 Farbgebung: Gruppe der „sauren“ FAA schwarz-grau-weiße Farben, Gruppe der „anderen“ FAA blaue Farben, Gruppe der „hydrophoben“ FAA rote Farben. Fehlerbalken stellen die Standardabweichungen dar.

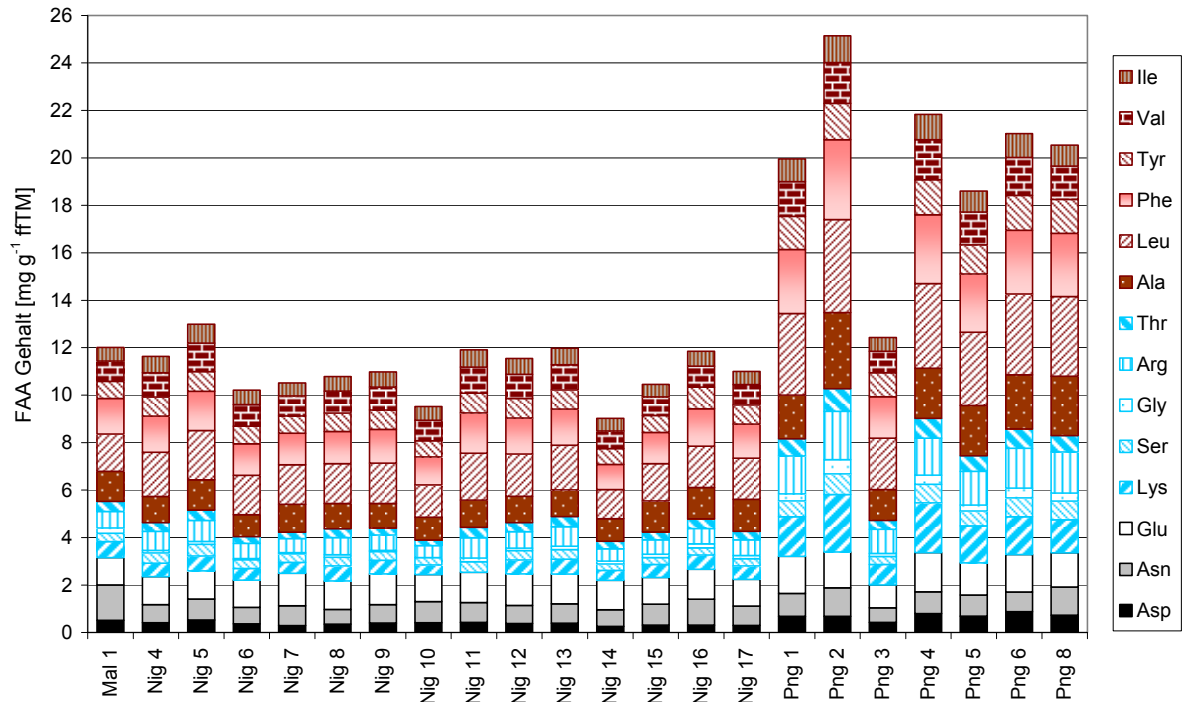


Abb. 50 FAA-Gehalte der Proben aus Malaysia, Nigeria und Papua-Neuguinea
 Farbgebung: Gruppe der „sauren“ FAA schwarz-grau-weiße Farben, Gruppe der „anderen“ FAA blaue Farben, Gruppe der „hydrophoben“ FAA rote Farben. Fehlerbalken stellen die Standardabweichungen dar.

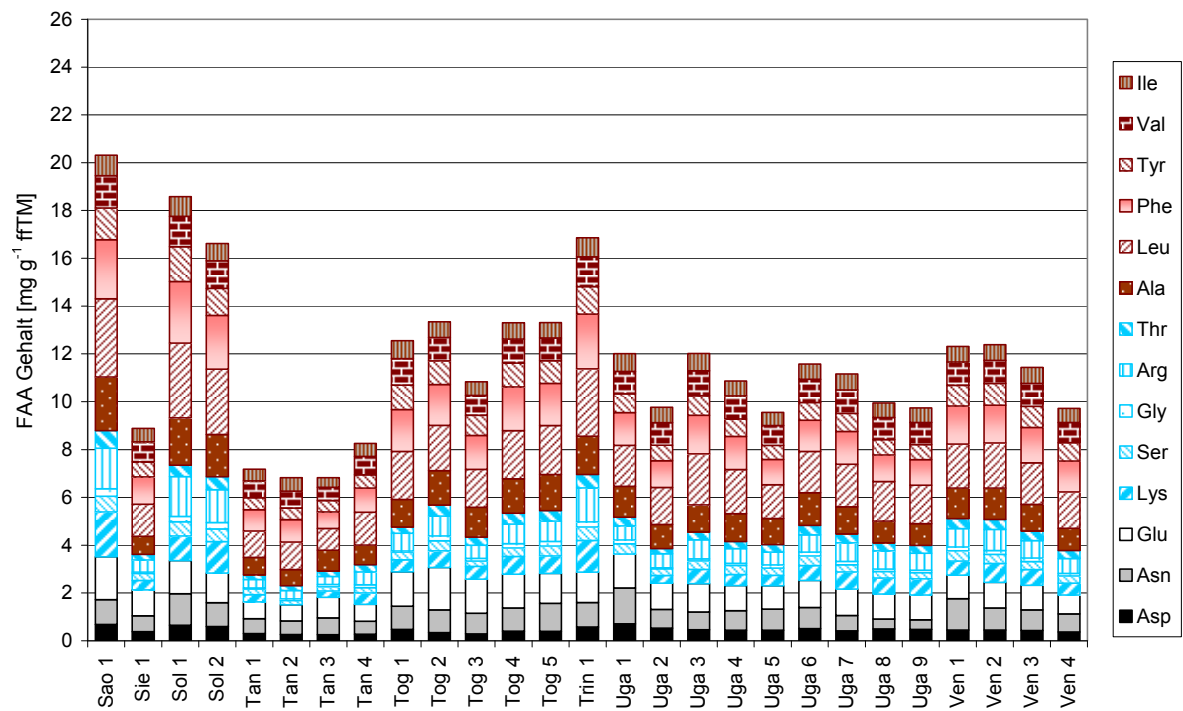


Abb. 51 FAA-Gehalte der Proben aus São Tomé, Sierra Leone, von den Salomonen, aus Tansania, Togo, Trinidad und Tobago, Uganda und Venezuela
 Farbgebung: Gruppe der „sauren“ FAA schwarz-grau-weiße Farben, Gruppe der „anderen“ FAA blaue Farben, Gruppe der „hydrophoben“ FAA rote Farben. Fehlerbalken stellen die Standardabweichungen dar.

4.1.5.3 Gehalte und Verteilung der freien Aminosäuren innerhalb der Gruppen „saure“, „hydrophobe“ und „andere“ Aminosäuren

Der Gesamtgehalt an „sauren“ Aminosäuren lag zwischen 1,08 und 4,56 mg g⁻¹ ffTM (MW 2,74 mg g⁻¹ ffTM SD 0,7) der der „hydrophoben“ zwischen 2,84 und 14,86 mg g⁻¹ ffTM (MW 7,6 mg g⁻¹ ffTM SD 2,7) und der der „anderen“ Aminosäuren zwischen 0,75 und 6,87 mg g⁻¹ ffTM (MW 2,7 mg g⁻¹ ffTM SD 1,4) (Abb. 52).

Die Summengehalte an FAA der Gruppen waren mit Korrelationskoeffizienten zwischen $r = 0,77$ und $r = 0,98$ ($r^2 = 0,55-0,99$) jeweils positiv mit dem Gesamtgehalt an freien Aminosäuren korreliert (Tab. 10). Dabei war die Gruppe der „hydrophoben“ mit der der „anderen“ stark korreliert. Im Vergleich dazu war die Korrelation zwischen der Gruppe der „sauren“ und der Gruppe der „anderen“ FAA schwächer.

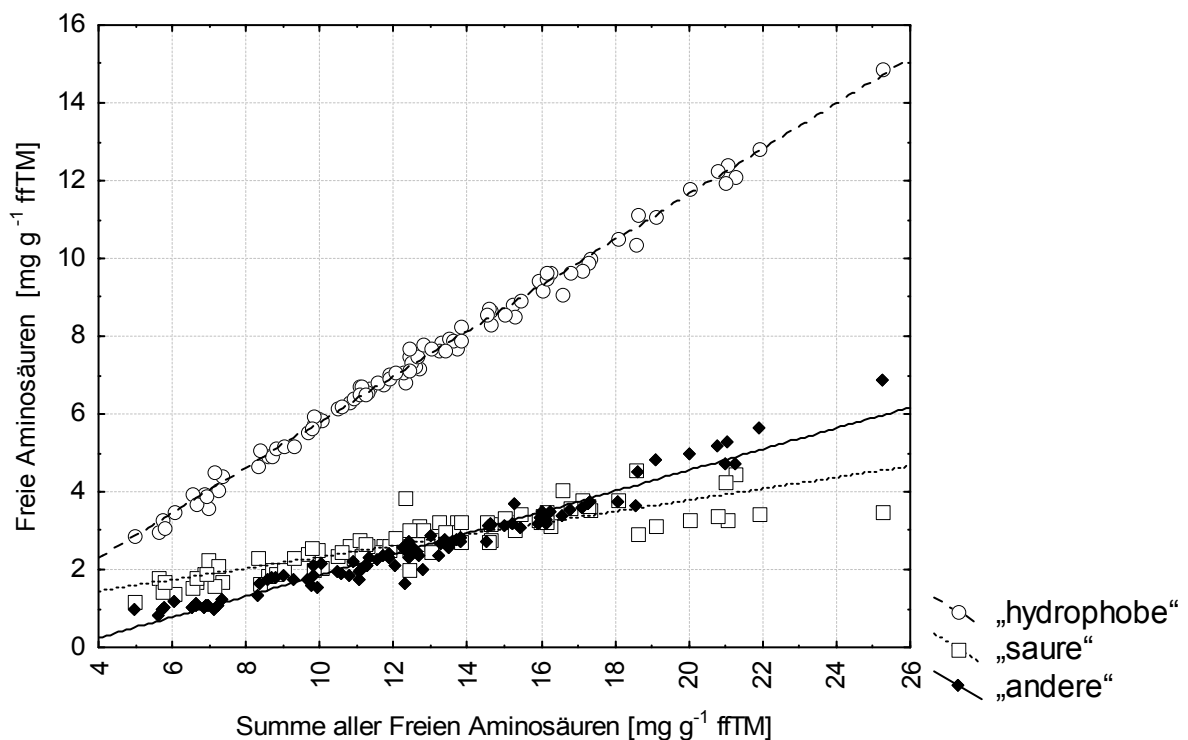


Abb. 52 Zusammenhang zwischen dem Gesamtgehalt an freien Aminosäuren (außer GABA) und dem Summen-Anteil an „sauren“, „hydrophoben“ und „anderen“ freie Aminosäuren
 Kreis: Summe aller „hydrophoben“ Aminosäuren, Quadrat: Summe aller „sauren“ Aminosäuren, ausgefüllte Raute: Summe aller „anderen“ Aminosäuren. Kennwerte der Korrelation zwischen dem FAA Gesamtgehalt und der „hydrophoben“ FAA: $r^2 = 0,99$; $r = 0,99$; $p < 0,0001$ und der Regressionsgeraden $y = -0,04 + 0,58 \cdot x$; Kennwerte der Korrelation zwischen dem FAA Gesamtgehalt und der „sauren“ FAA: $r^2 = 0,76$; $r = 0,87$; $p < 0,0000$; und der Regressionsgeraden $y = 0,87 + 0,14 \cdot x$; Kennwerte der Korrelation zwischen dem FAA-Gesamtgehalt und der „anderen“ FAA: $r^2 = 0,95$; $r = 0,97$; $p < 0,0001$; und der Regressionsgeraden $y = -0,83 + 0,27 \cdot x$.

Proben, die einen Gesamtgehalt an FAA größer 14 mg g⁻¹ ffTM aufwiesen, enthielten in der Regel auch höhere Anteile an „anderen“ FAA als an „sauren“ FAA (Abb. 52).

Tab. 10 Korrelationsmatrix: Gesamtgehalt, Summe der „sauren“, „hydrophoben“ und „anderen“ FAA

Dargestellt ist die Korrelationsmatrix der Parameter Gesamtgehalt FAA, Gruppe der „sauren“, „hydrophoben“ und „anderen“ FAA [mg g⁻¹ ffTM], Korrelationskoeffizienten r und r² (in Klammern) für n = 110, rot markiert wenn signifikant bei p < 0,05

	Gesamtgehalt FAA	„saure“ FAA	„hydrophobe“ FAA	„andere“ FAA
Gesamtgehalt an FAA	-	0,87 (0,73)	1,00 (0,99)	0,98 (0,95)
„saure“ FAA		-	0,85 (0,69)	0,77 (0,55)
„hydrophobe“ FAA			-	0,97 (0,94)
„andere“ FAA				-

Umgerechnet in Molprozent vom Gesamtgehalt der freien Aminosäuren machte der Anteil an hydrophoben Aminosäuren im Mittel 59,7 mol% (Min.-Max.: 51,79-65,04) aus, der Anteil an „sauren“ Aminosäuren 20,6 mol % (Min.-Max.: 12,8-30,0) und der Anteil der „anderen“ FAA 19,5 mol % (Min.-Max.: 10,8-26,8). Die Verteilung der FAA innerhalb der Gruppen setzte sich im Mittel wie folgt zusammen (siehe auch Tab. 11 und im Anhang Tab. 22):

- „hydrophobe“ Aminosäuren: 15 mol % Leucin, 15 mol % Alanin, 10 mol % Phenylalanin, 9 mol % Valin, 5 mol % Isoleucin und 5 mol % Tyrosin,
- „saure“ Aminosäuren: 3,5 mol % Asparaginsäure, 7,2 mol % Asparagin, 8,9 mol % Glutaminsäure, 1,0 mol % Glutamin + Histidin
- „andere“ Aminosäuren: 0,3 mol % Tryptophan, 5,1 mol % Lysin, 3,7 mol % Serin, 2,1 mol % Glycin, 5,0 mol % Arginin, 3,5 mol % Threonin und unter 0,09 mol % Methionin.

Tab. 11 Relative Gehalte an freien Aminosäuren in Rohkakao in mol % und Mittelwerte pro Land
 Abkürzungen: Bra: Brasilien; Bra T.g.: *T. grandiflorum*; Kam: Kamerun; Dom: Dominikanische Republik; Ecu: Ecuador; Ecu Mon: EET 95, EET 48, EET 103, CCN 31, CCN 51; Gha: Ghana; Hai: Haiti; Ind ns: nicht näher bezeichnete Probe aus Indonesien; Ind Java: Java; Ind Sul.: Sulawesi; Ind Sum.: Sumatra; Elf: Elfenbeinküste; Lib: Liberia; Mad: Madagaskar; Mal: Malaysia; Nig: Nigeria; Pap: Papua-Neuguinea; Sao: São Tomé; Sie: Sierra Leone; Sal: Salomonen; Tan: Tansania; Tog: Togo; Tri: Trinidad; Uga: Uganda; Ven: Venezuela; * Glutamin und Histidin wurden nicht über die HPLC-Anlage getrennt und sind daher als Summe eingerechnet worden; ** in 25 Proben wurde der Gehalt an Methionin und Threonin nicht analysiert, entsprechend ändert sich die Anzahl N der untersuchten Proben wie folgt: Gha: 2, Hai: 3, Java: 3, Sum: 1, Elf: 11, Mad: 4, Nig: 11, Pap: 6, Tan: 3, Tog: 4, Uga: 6, Ven: 2; *** in 13 Proben wurde Lysin nicht analysiert, entsprechend ändert sich die Anzahl n der untersuchten Proben wie folgt: Elf: 9, Mad: 5, Nig: 11, Pap: 6, Tan: 3, Uga: 8, Ven: 3.

	n	"saure"	Asp	Asn	Glu	Gln+His*	„hydrophobe“	Leu	Ala	Phe	Tyr	Val	Ile	„andere“	Trp**	Lys***	Ser	Gly	Arg	Thr	Met**	FAA-Gesamtgehalt [mg g ⁻¹ fTMM]	SD
Bra	1	17,3	3,5	6,2	7,1	0,5	60,9	16,8	14,2	11,1	5,4	8,2	5,2	21,8	0,0	6,2	3,9	2,2	5,8	3,7	0,0	14,5	-
Bra T. g.	2	18,9	6,1	4,6	8,0	0,2	60,1	12,2	16,8	8,8	4,2	10,9	7,2	20,9	0,4	5,0	3,6	2,4	5,5	4,0	0,0	6,6	1,4
Kam	1	20,4	3,3	6,3	9,8	1,0	61,1	16,1	14,4	10,9	5,7	8,7	5,2	18,5	0,5	5,5	2,8	1,9	4,2	3,6	0,0	12,3	-
Dom	1	18,8	3,1	6,3	8,7	0,7	57,7	17,0	14,8	9,6	4,8	7,1	4,4	23,4	0,0	7,6	2,9	2,1	7,6	3,2	0,0	19,6	-
Ecu	9	22,0	3,4	7,3	9,8	1,5	59,8	15,1	15,5	9,4	4,8	9,3	5,8	18,2	0,4	4,5	3,4	1,9	4,9	3,4	0,0	7,4	1,5
Ecu Mon	5	25,2	2,9	8,6	11,7	2,1	57,7	14,5	15,6	9,2	4,8	8,4	5,2	17,1	0,1	4,3	3,2	2,3	4,4	3,4	0,0	9,2	4,4
Gha	7	18,7	2,9	6,7	8,3	0,9	60,5	16,5	14,6	10,7	5,1	8,7	5,0	20,8	0,2	5,6	3,8	2,1	5,5	3,6	0,0	15,4	1,2
Hai	4	26,5	4,0	8,9	12,1	1,4	57,4	12,4	15,3	7,7	5,2	10,0	6,9	16,1	0,5	3,7	2,8	2,0	4,0	3,7	0,0	7,0	1,1
Ind ns	1	20,0	3,5	8,3	7,4	0,8	60,1	15,5	14,7	10,6	5,3	8,8	5,2	19,9	0,6	4,3	4,4	1,8	5,4	3,3	0,0	14,5	-
Ind Java	4	18,4	3,8	6,9	7,5	0,2	59,0	16,5	14,4	10,4	5,1	7,9	4,7	22,6	0,5	5,9	3,8	2,8	5,9	3,7	0,0	15,6	2,5
Ind Sul.	2	28,3	4,5	10,3	12,6	0,9	60,5	13,2	14,7	9,1	5,5	10,8	7,1	11,2	0,9	1,8	3,2	0,0	2,8	2,4	0,0	6,8	0,2
Ind Sum.	3	13,1	3,3	4,3	5,5	0,0	60,8	14,5	20,0	8,9	3,9	8,4	5,0	26,1	0,0	10,1	3,4	3,5	5,5	3,6	0,0	24,3	1,5
Elf	13	21,0	3,5	7,6	8,7	1,2	59,5	15,6	14,5	10,2	4,9	9,0	5,2	19,5	0,5	5,1	3,9	1,6	5,2	3,4	0,1	15,2	1,7
Lib	1	23,2	3,5	6,8	11,3	1,7	56,4	13,2	13,2	9,6	5,7	8,8	5,8	20,4	0,2	5,0	4,0	2,5	4,9	3,8	0,0	10,6	-
Mad	7	21,0	3,6	8,5	8,0	0,8	58,6	15,1	16,5	10,0	4,4	8,6	5,3	20,4	0,2	5,7	3,4	2,7	5,0	3,4	0,1	17,4	3,4
Mal	1	25,2	4,2	12,0	8,4	0,6	55,0	13,0	15,4	9,7	4,3	7,9	4,7	19,8	0,0	4,9	3,6	3,2	4,3	3,8	0,0	12,1	-
Nig	14	21,1	3,2	7,1	9,7	1,1	59,6	15,1	14,7	9,9	5,0	9,3	5,6	18,4	0,5	4,4	3,9	1,6	4,5	3,4	0,2	11,3	1,1
Pap	7	14,7	3,5	4,6	6,5	0,1	60,9	16,5	16,1	10,6	5,0	8,2	4,7	24,4	0,1	7,2	4,3	2,9	6,0	3,9	0,0	20,0	3,9
Sao	1	16,2	3,3	5,0	7,9	0,0	58,6	16,1	16,3	9,7	4,7	7,5	4,2	25,2	0,0	8,2	4,0	2,7	6,3	4,0	0,0	20,3	-
Sie	1	23,6	4,2	7,2	10,8	1,4	59,5	14,9	12,6	10,1	5,2	10,5	6,3	16,9	0,8	3,9	4,2	0,9	4,3	2,8	0,0	9,1	-
Sal	2	16,6	3,5	6,4	6,7	0,0	60,9	16,7	15,7	10,9	5,3	7,7	4,4	22,5	0,3	6,0	4,1	2,4	6,5	3,2	0,0	17,7	1,5
Tan	4	21,8	3,6	8,1	8,9	1,2	61,9	15,1	15,5	9,4	4,9	10,2	6,7	16,3	0,3	3,9	3,4	1,8	4,0	3,3	0,0	7,4	0,7
Tog	5	21,7	2,9	7,5	10,2	1,2	59,7	14,8	15,5	10,4	5,4	8,5	5,1	17,7	0,4	4,4	3,3	2,0	4,4	3,3	0,0	12,9	1,1
Tri	1	16,7	3,4	6,0	6,8	0,5	59,8	16,8	14,1	10,9	5,0	8,3	4,8	23,5	0,0	7,0	4,2	2,2	6,4	3,7	0,0	17,0	-
Uga	9	21,6	4,5	6,9	9,1	1,0	60,3	15,7	15,0	9,2	4,7	9,8	5,9	18,1	0,3	4,1	3,8	1,8	4,7	3,3	0,1	10,9	1,1
Ven	4	20,2	3,6	8,1	7,4	1,0	60,1	15,2	14,7	10,2	5,4	9,1	5,6	19,7	0,1	4,8	3,9	2,2	4,9	3,7	0,0	11,6	1,3
Alle	110	20,7	3,5	7,2	8,9	1,0	59,7	15,2	15,3	9,9	4,9	9,0	5,5	19,5	0,3	5,1	3,7	2,1	5,0	3,5	0,0	13,0	4,7

4.1.5.4 Gruppe 1 „hydrophobe“ FAA: Alanin, Leucin, Phenylalanin, Tyrosin, Valin und Isoleucin am Beispiel von Alanin

Die Gehalte der Aminosäure Alanin lagen zwischen 0,49 und 3,61 mg g⁻¹ fTfM (Abb. 53). Insgesamt war die Spannbreite des gemessenen Alaningehaltes für Proben eines Herkunftslandes gering, nur in Proben der Länder Ecuador, Indonesien, Papua-Neuguinea und Madagaskar variierten die Werte stärker. Da die Gehalte der „hydrophoben“ Aminosäuren jeweils stark mit dem FAA-Gesamtgehalt korreliert waren, gab es hinsichtlich der Auswertung des Mittelwertvergleiches nur geringfügige Unterschiede zum Ergebnis des Gesamtgehaltes an FAA (Abb. 45, Abb. 54).

Das Ergebnis einer einfaktoriellen Varianzanalyse nach ANOVA mit anschließendem *post-hoc*-Test ergab einen signifikanten Einfluss der Herkunft auf die Variable „Alaningehalt“ ($F_{(12, 39)} = 7,1^*$ bei $p = < 0,0001$, *signifikant, SQ und MQ-Effekt siehe Anhang Tab. 25).

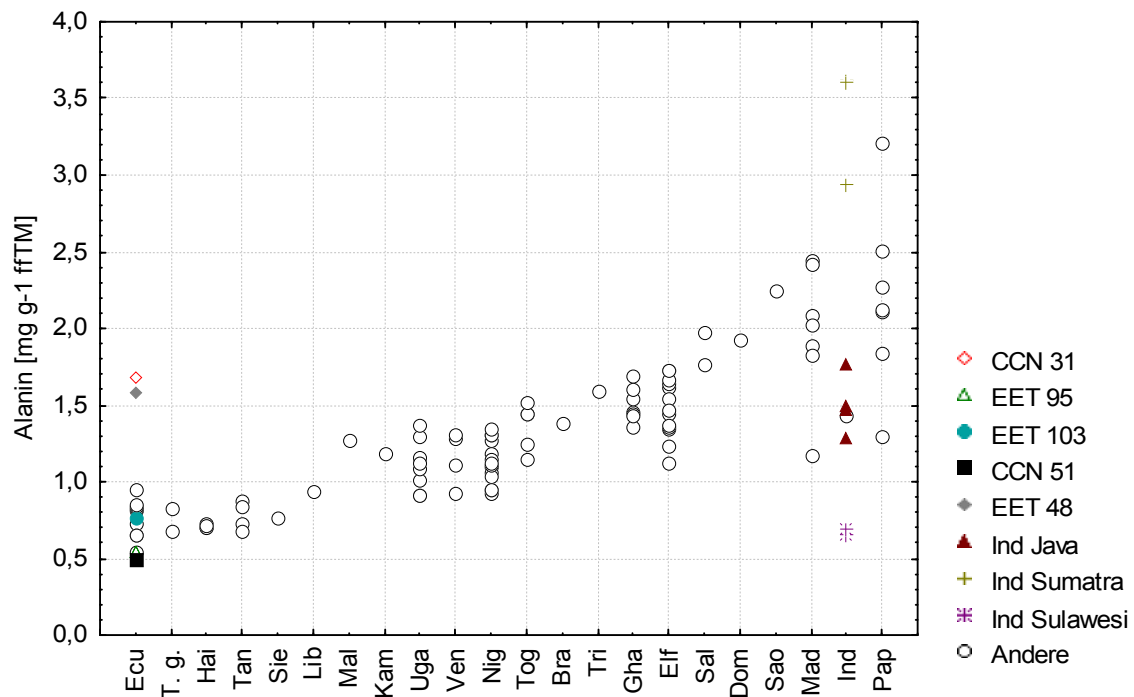


Abb. 53 Alaningehalt der Rohkakaoproben
 Dargestellt sind die Alaningehalte von 110 Proben sortiert nach Ländern. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien), wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

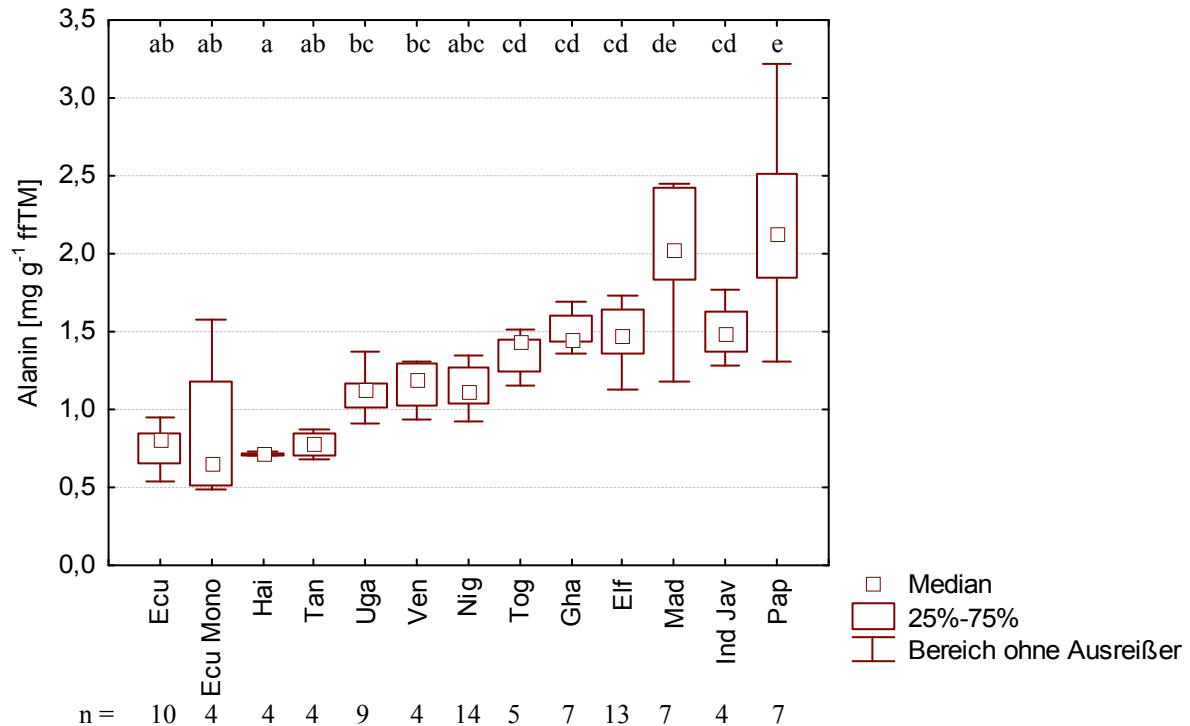


Abb. 54 Mittelwertvergleich: Alaningehalt der Rohkakaoproben
 Darstellung der Mediane (□), der 25-75-Perzentile und der Ausreißer (°) für alle Herkünfte mit $n \geq 4$ unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ (*post-hoc*-Test: LSD-Test nach ANOVA, $n = 4$; bei Herkünften mit $n > 4$ wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

4.1.5.5 Gruppe 2 „saure“ FAA: Asparaginsäure, Asparagin, Glutamin, Glutaminsäure, Histidin am Beispiel von Asparaginsäure

Die Asparaginsäuregehalte lagen zwischen 0,14 und 0,88 mg g⁻¹ fTMM (Abb. 55). Ähnlich dem Ergebnis für Alanin war die Spannbreite der gemessenen Asparaginsäuregehalte für Proben der meisten Herkünfte gering: auch hier variierten die Werte der Proben aus Indonesien, Papua-Neuguinea und Madagaskar jeweils stärker als bei anderen Herkünften. Außerdem stachen die Proben Uga 1 aus Uganda und die Probe CCN 51 aus Ecuador mit erhöhten Werten hervor. Die Gehalte der „sauren“ Aminosäuren waren, wie schon für die Gruppe der „hydrophoben“ beschrieben, positiv mit dem Gesamtgehalt der freien Aminosäuren korreliert. Entsprechend gab es hinsichtlich der Auswertung des Mittelwertvergleiches nur geringfügige Unterschiede dazu. Im Vergleich zu den westafrikanischen Proben aus Nigeria und Togo zeigten die Werte der Ugandaproben im Mittel höhere Werte (Abb. 56). Im Gegensatz zu den FAA-Gehalten der Gruppen „hydrophobe“ und „andere“ FAA gab es hinsichtlich der Aminosäureverteilung innerhalb der Gruppe der „sauren“ Aminosäuren Unterschiede. So enthielten Proben der Länder Nigeria und Togo deutlich höhere Gehalte an Glutaminsäure als Proben aus Uganda. Madagaskarproben konnten von allen anderen Proben durch ihre hohen Asparagingehalte unterschieden werden (siehe Anhang Tab. 22).

Das Ergebnis einer einfaktoriellen Varianzanalyse nach ANOVA mit anschließendem *post-hoc*-Test ergab einen signifikanten Einfluss des Faktors Herkunft auf die Variable „Asparaginsäuregehalt“ ($F_{(12, 39)} = 9,73^*$ bei $p = < 0,001$, *signifikant, SQ und MQ-Effekt siehe Anhang Tab. 25).

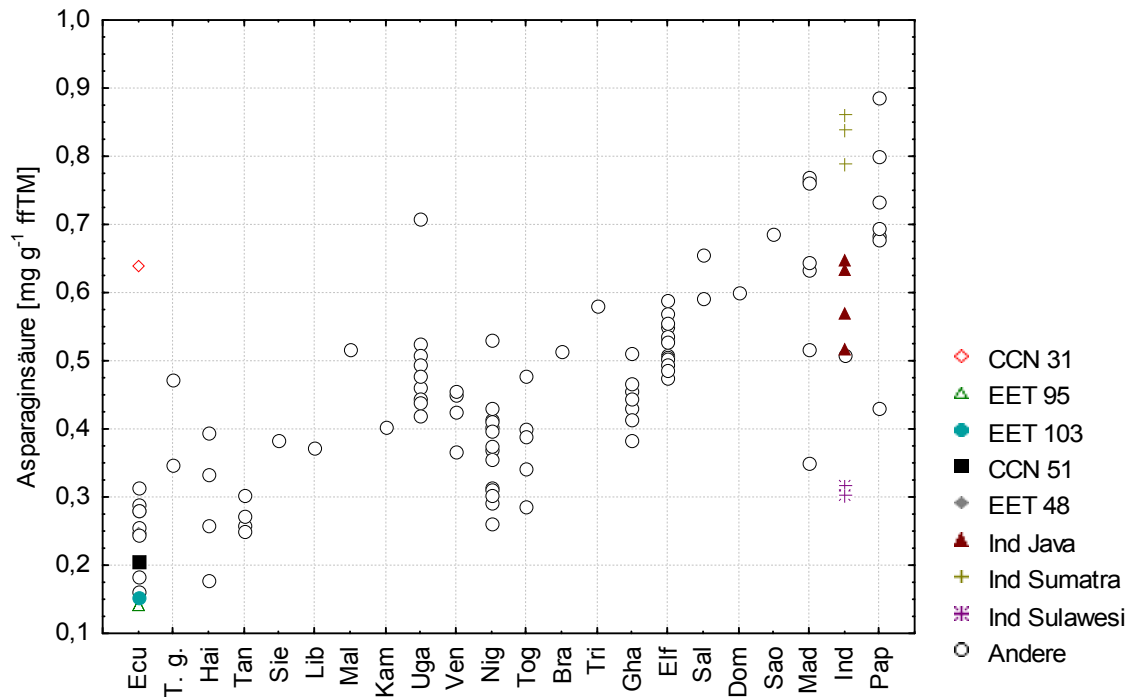


Abb. 55 Asparaginsäuregehalte der Rohkakaoproben
 Dargestellt sind die Asparaginsäuregehalte der Proben sortiert nach Ländern. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

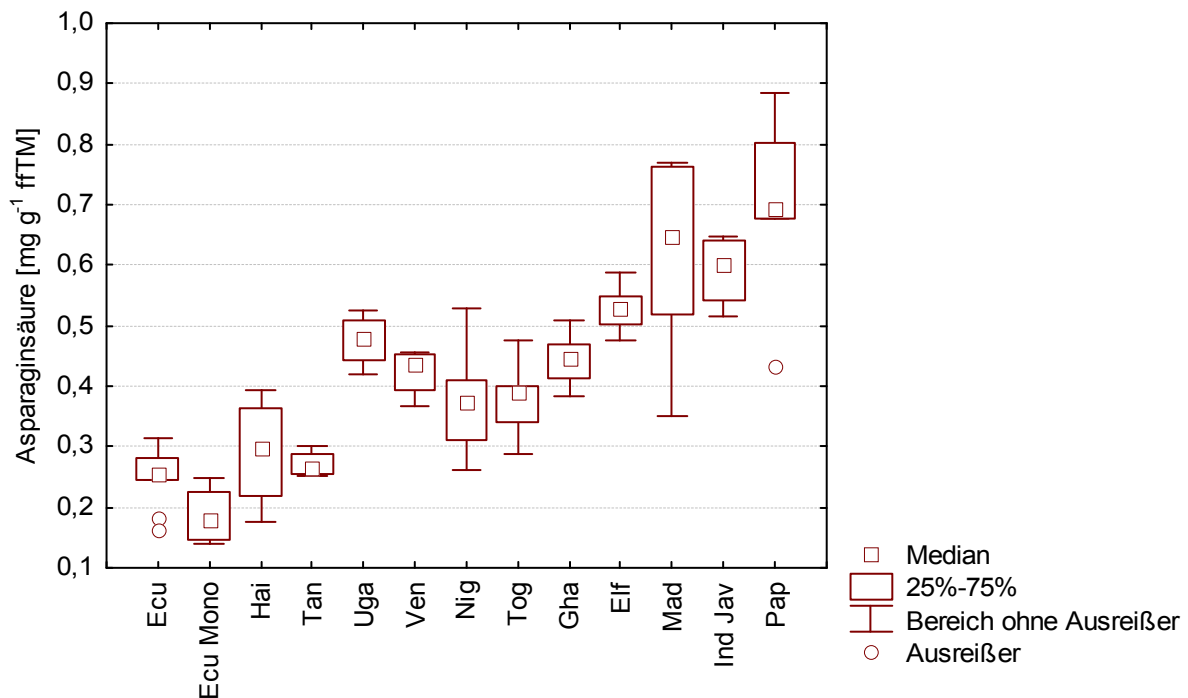


Abb. 56 Mittelwertvergleich: Asparaginsäuregehalt der Rohkakaoproben
 Darstellung der Mediane (□), der 25-75-Perzentile und der Ausreißer (°) für alle Herkünfte mit $n \geq 4$ unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ (*post-hoc*-Test: LSD-Test nach ANOVA, $n = 4$; bei Herkünften mit $n > 4$ wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

4.1.5.6 Gruppe 3 „andere“ FAA: Tryptophan, Lysin, Serin, Glycin, Arginin, Threonin am Beispiel von Threonin

Die Gehalte der Aminosäure Threonin lagen zwischen 0,14 und 0,95 mg g⁻¹ fTMM (Abb. 58). Gehalte und Streuung der Werte sind mit den Ergebnissen der Asparaginsäure vergleichbar, jedoch wiesen die Werte der indonesischen Proben eine noch größere Wertespanne auf. Aufgrund der stark positiven Korrelation zum FAA-Gesamtgehalt ergaben sich hinsichtlich der Ergebnisse des Mittelwertvergleiches im Vergleich zu denen des Gesamtgehaltes der FAA nur geringfügige Unterschiede.

Das Ergebnis einer einfaktoriellen Varianzanalyse mit anschließendem *post-hoc*-Test ergab einen signifikanten Einfluss der Herkunft auf die Variable „Threonengehalt“ ($F_{(12, 39)} = 7,34^*$ bei $p = < 0,001$, *signifikant, SQ und MQ-Effekt siehe Anhang Tab. 25).

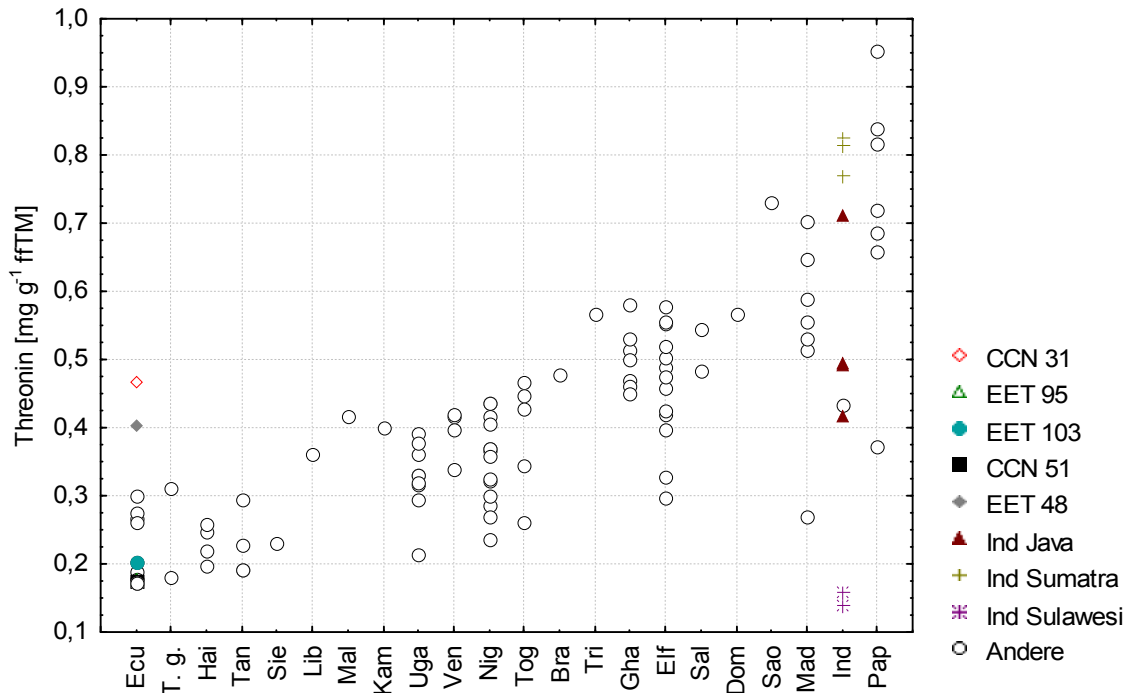


Abb. 57 Threoningehalt der Rohkakaoproben
 Dargestellt sind die Threoningehalte der Proben sortiert nach Ländern. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

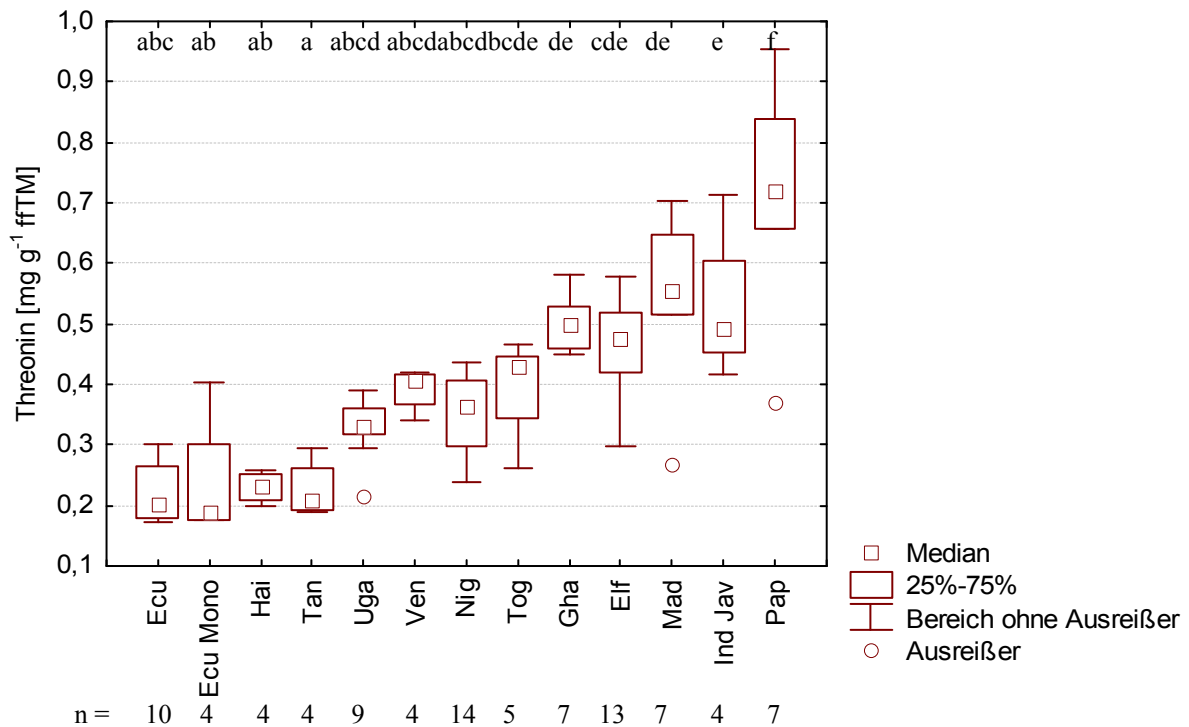


Abb. 58 Mittelwertvergleich: Threoningehalt der Rohkakaoproben
 Darstellung der Mediane (□), der 25-75-Perzentile und der Ausreißer (°) für alle Herkünfte mit $n \geq 4$ unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ (*post-hoc*-Test: LSD-Test nach ANOVA, $n = 4$; bei Herkünften mit $n > 4$ wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

4.1.5.7 γ -Aminobuttersäure

Zusätzlich zu den proteinogenen Aminosäuren wurden die relativen Gehalte der nicht proteinogenen Aminosäure γ -Aminobuttersäure (folgend als GABA-Wert bezeichnet) erfasst. Die GABA-Werte aller Proben schwankten zwischen 2,9 und 24,5% (MW 9,1% SD 3,7) (Abb. 59). Besonders hohe GABA-Werte wiesen Proben aus Ecuador, Haiti, Tansania und einige Nigeriaproben auf. Interessanterweise unterschieden sich die GABA-Werte der verschiedenen Proben aus Indonesien nicht. Alle Proben aus Indonesien lagen in dem gleichen Bereich wie Proben von der Elfenbeinküste, aus Madagaskar, Ghana oder Papua-Neuguinea. Dies zeigte sich auch im Mittelwertvergleich, der lediglich Unterschiede zwischen Proben aus Ecuador (monoklonale) und Haiti zu denen aus den restlichen Herkunftsgebieten aufwies (Abb. 60).

Das Ergebnis einer einfaktoriellen Varianzanalyse nach ANOVA mit anschließendem *post-hoc*-Test ergab einen signifikanten Einfluss des Faktors Herkunft auf die Variable „GABA-Wert“ ($F_{(12, 39)} = 5,02^*$ bei $p < 0,0001$, *signifikant, SQ und MQ-Effekt siehe Anhang Tab. 25).

In Abb. 61 ist die Korrelation des GABA-Wertes mit dem Gesamtgehalt an FAA dargestellt, von allen FAA weist GABA diesbezüglich mit $r = -0,63$ den geringsten Korrelationskoeffizienten auf.

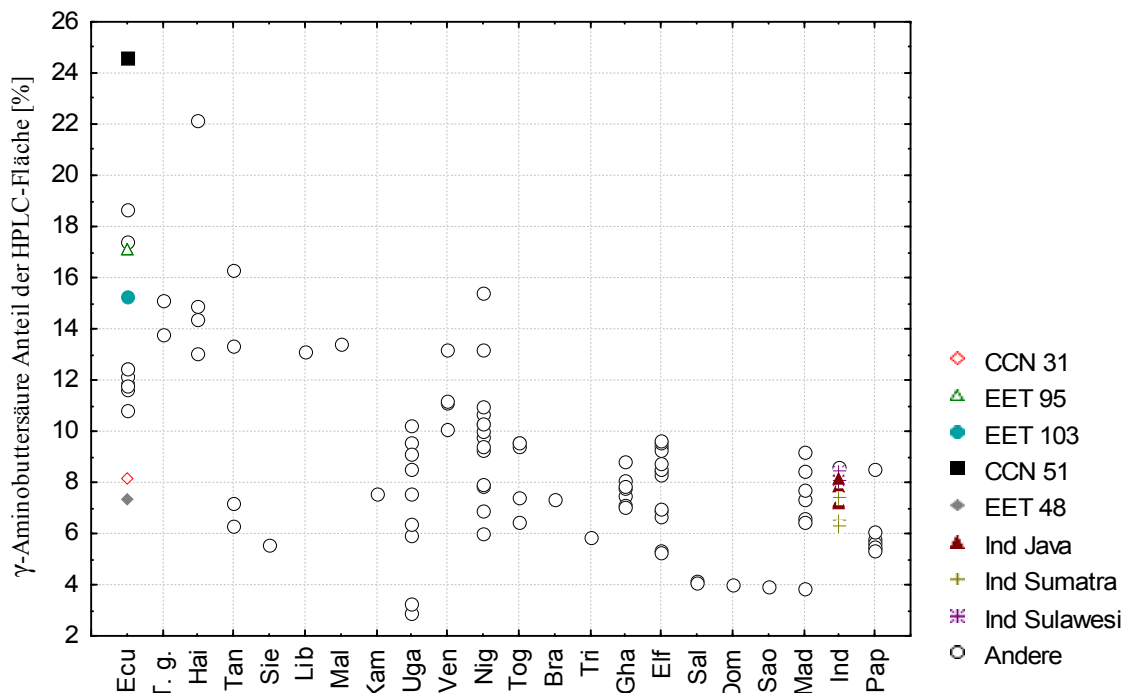


Abb. 59 γ -Aminobuttersäure Anteil der HPLC-Fläche (GABA-Wert) der Rohkakaoproben
 Dargestellt ist der γ -Aminobuttersäure Anteil der HPLC-Fläche (GABA-Werte) der Proben sortiert nach Ländern. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol \circ dargestellt.

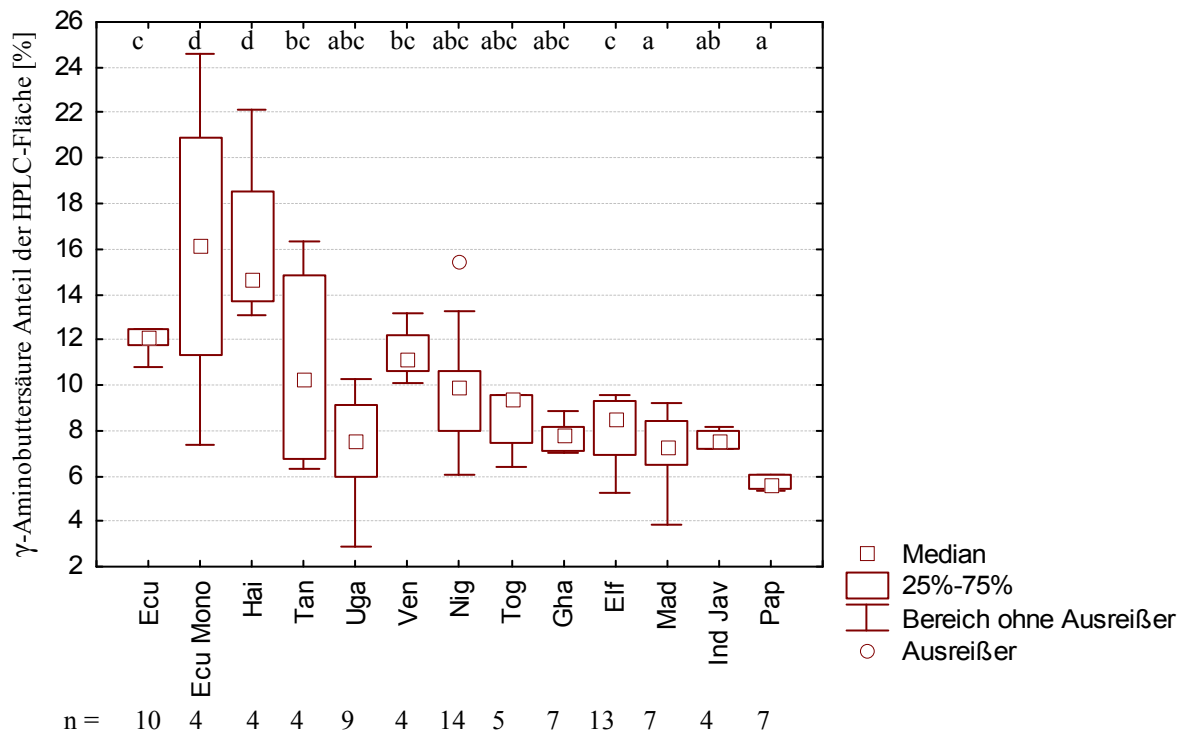


Abb. 60 Mittelwertvergleich: γ -Aminobuttersäure Anteil der HPLC-Fläche (GABA-Wert) der Rohkakaoproben
 Darstellung der Mediane (\square), der 25-75-Perzentile und der Ausreißer (\circ) für alle Herkünfte mit $n \geq 4$ unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ (*post-hoc*-Test: LSD-Test nach ANOVA, $n = 4$; bei Herkünften mit $n > 4$ wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

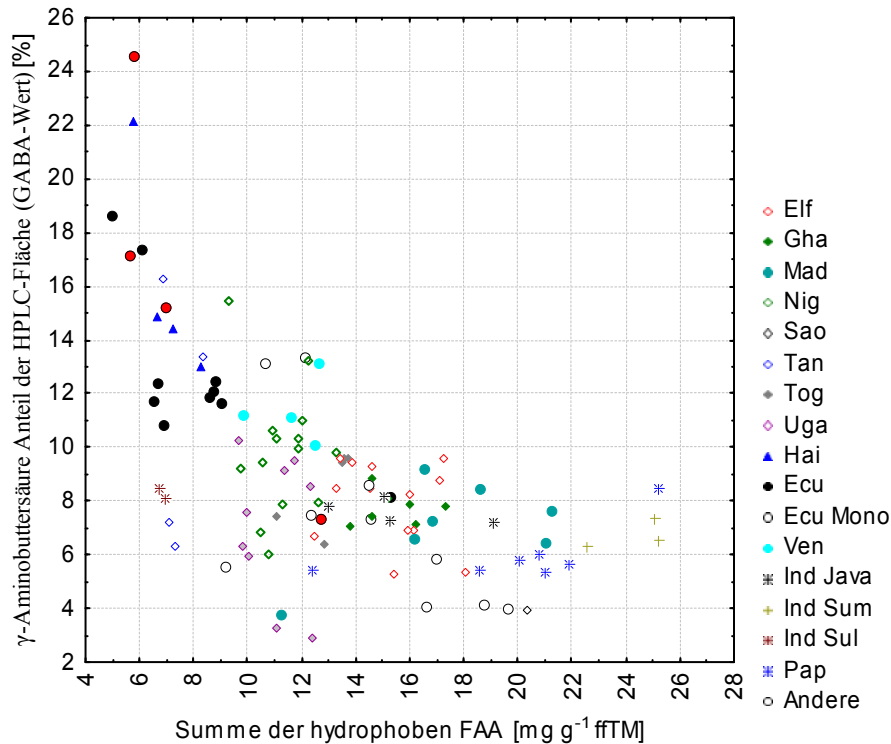


Abb. 61 GABA-Wert in Abhängigkeit von dem Gesamtgehalt an hydrophoben FAA
 Als schwarze Linie eingezeichnet ist die Regressionsgerade ($r^2 = 0,39$ $r = -0,62$; bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,01$), rot dargestellt ist das 95%-Konfidenz-Intervall

4.1.5.8 *Theobroma grandiflorum*

Die beiden Proben aus Brasilien enthielten 5,6 und 7,6 mg g⁻¹ ffTM freie Aminosäuren, das Verhältnis von „hydrophoben“ zu „sauren“ freien Aminosäuren lag bei 3,4 und 3,0.

4.1.5.9 Zusammenhänge zwischen den freien Aminosäuren

Alle FAA außer GABA waren positiv miteinander korreliert ($r = 0,57-0,99$; Lys mit Asn $r = 0,49$). GABA war mit allen anderen FAA negativ korreliert ($r = -0,31- -0,62$) (siehe Tab. 27 und Tab. 22 im Anhang). Asparagin und GABA wiesen von allen FAA die geringsten Korrelationskoeffizienten (bezogen auf den Betragswert) auf.

4.1.5.10 Stickstoffgehalt

Der Stickstoffgehalt (hier Kjeldahl-Stickstoffgehalt) der Proben lag zwischen 44,4 und 58,9 mg g⁻¹ ffTM (MW 52,2 mg g⁻¹ ffTM SD 2,9) (Abb. 62). Bis auf die nicht identifizierte Probe aus Indonesien wiesen alle südostasiatischen Proben (Indonesien, Papua-Neuguinea, Malaysia und Salomonen) und alle Proben aus Madagaskar generell niedrige bis mittlere Gehalte an Stickstoff auf. Die höchsten Werte wurden in den Proben Ecu 13 (Genotyp EET 48) und Ecu 11 (Genotyp EET 103), in Proben der Elfenbeinküste und Ghana sowie in Proben aus Nigeria gefunden. Die unter standardisierten Bedingungen fermentierten Proben (Ecu 5, 10-13) wiesen eine sehr große Wertespanne auf, alle anderen Ecuadorproben wichen nicht stark voneinander ab. Das Ergebnis des Mittelwertvergleiches ergab Unterschiede zwischen Java und Papua-Neuguinea und allen anderen Herkünften.

Das Ergebnis einer einfaktoriellen Varianzanalyse mit anschließendem *post-hoc*-Test ergab einen signifikanten Einfluss des Faktors Herkunft auf die Variable „Stickstoffgehalt“ ($F_{(12, 39)} = 17,69^*$ bei $p = < 0,0001$, *signifikant, SQ und MQ-Effekt siehe Anhang Tab. 25).

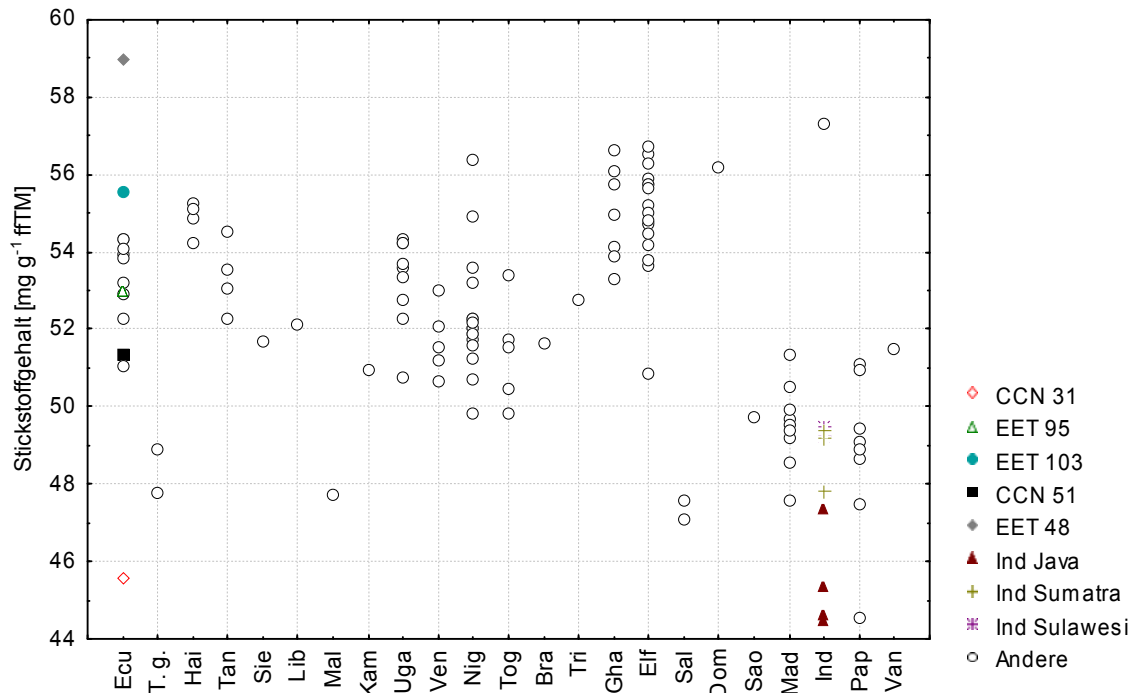


Abb. 62 Stickstoffgehalt der Rohkakaoproben
 Dargestellt sind die Stickstoffgehalte der Proben sortiert nach Ländern. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

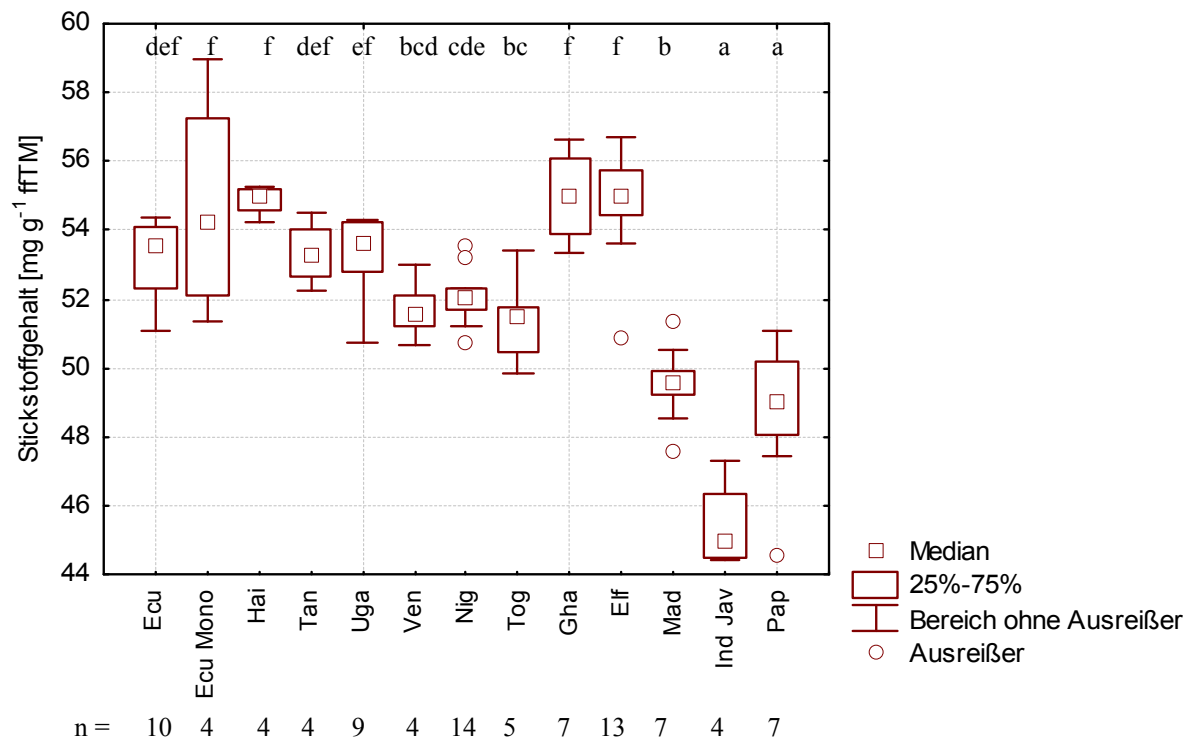


Abb. 63 Mittelwertvergleich: Stickstoffgehalt der Rohkakaoproben
 Darstellung der Mediane (□), der 25-75-Perzentile und der Ausreißer (°) für alle Herkünfte mit $n \geq 4$ unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ (*post-hoc*-Test: LSD-Test nach ANOVA, $n = 4$; bei Herkünften mit $n > 4$ wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

4.1.5.11 Rohproteingehalt

Der Rohproteingehalt der Proben lag zwischen 226 und 305 mg g⁻¹ ffTM (MW 265 mg g⁻¹ ffTM SD 13,9) (Abb. 64). Durch das Herausrechnen der Methylxanthingehalte wurden die Proben aus Indonesien bezüglich ihrer regionalen Herkünfte unterscheidbar, wobei in Proben aus Java die niedrigsten Rohproteingehalte gemessen wurden. Die Javaproben wurden über den Mittelwertvergleich von Proben anderer Herkünfte getrennt. Weiterhin wiesen Proben aus Ghana und von der Elfenbeinküste höhere Gehalte an Rohprotein auf als Proben aus Nigeria, Togo, Uganda und Madagaskar (Abb. 65).

Das Ergebnis einer einfaktoriellen Varianzanalyse nach ANOVA mit anschließendem *post-hoc*-Test ergab einen signifikanten Einfluss des Faktors Herkunft auf die Variabel „Rohproteingehalt“ ($F_{(12, 39)} = 13,68^*$ bei $p = <0,001$, *signifikant, SQ und MQ-Effekt siehe Anhang Tab. 25).

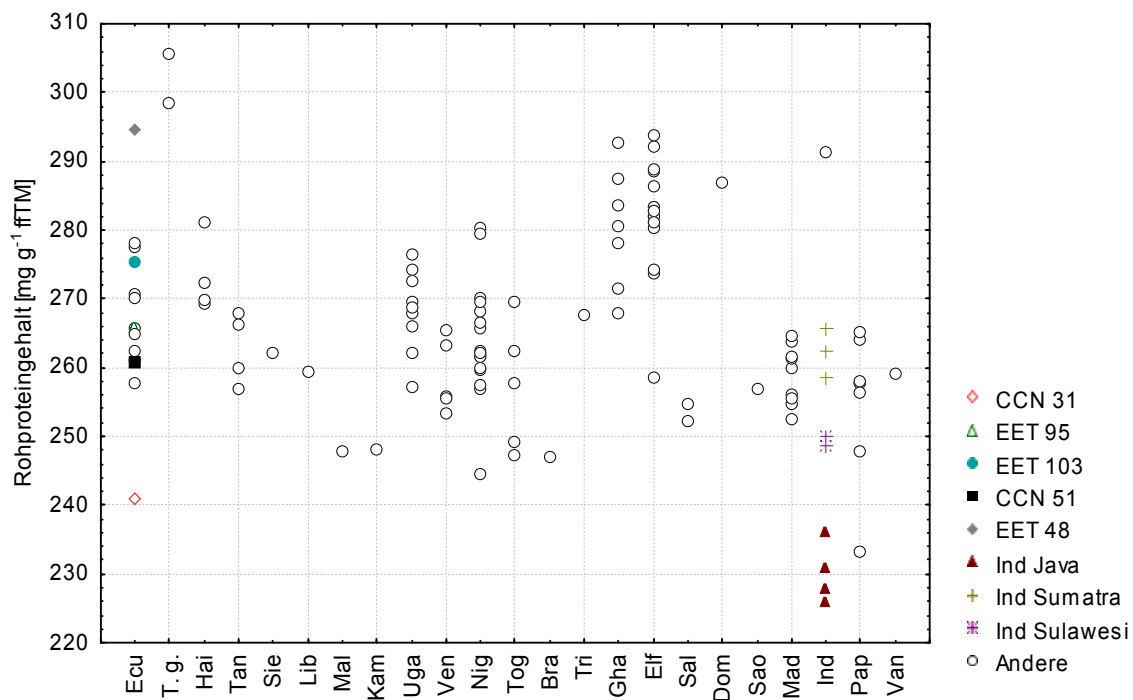


Abb. 64 Rohproteingehalt der Rohkakaoproben
 Dargestellt sind die Rohproteingehalte der Proben sortiert nach Ländern. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

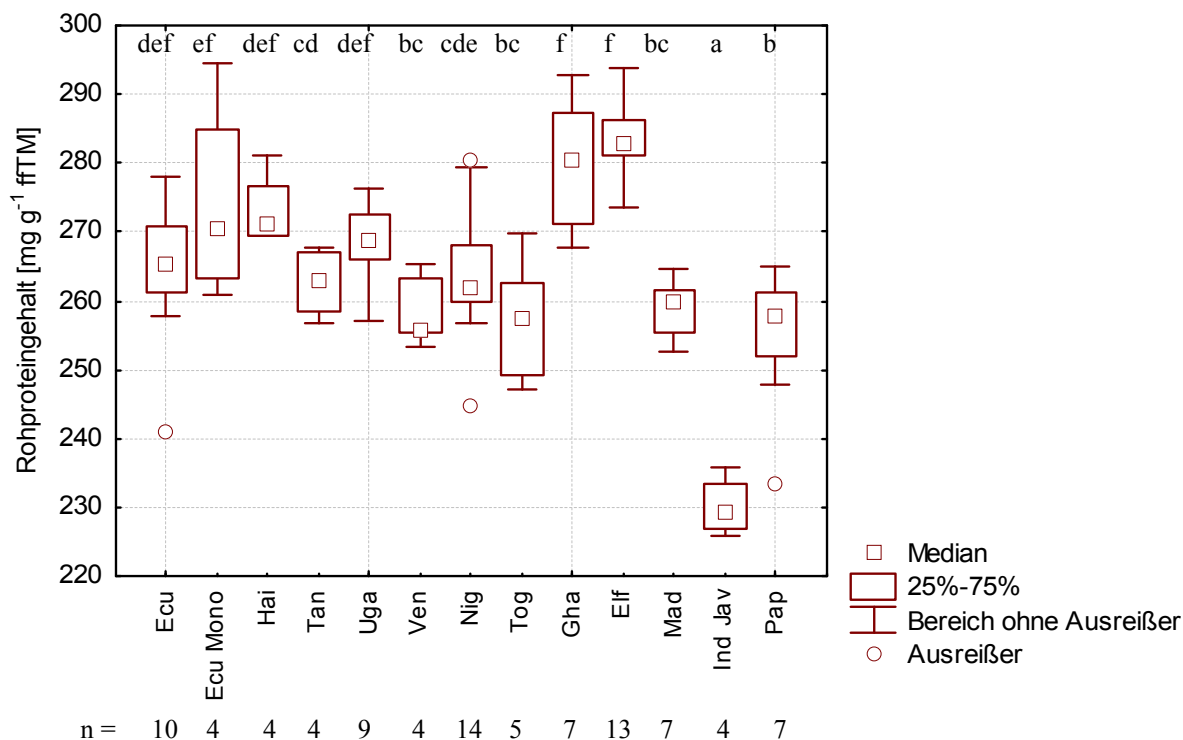


Abb. 65 Mittelwertvergleich: Rohproteingehalt der Rohkakaoproben
 Darstellung der Mediane (\square), der 25-75-Perzentile und der Ausreißer ($^{\circ}$) für alle Herkünfte mit $n \geq 4$ unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ (*post-hoc*-Test: LSD-Test nach ANOVA, $n = 4$; bei Herkünften mit $n > 4$ wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

4.1.5.12 Zusammenfassung

Sowohl der Gesamtgehalt an FAA als auch die Gehalte einzelner FAA wiesen große Variationsbreiten auf. Die Proben aus bestimmten Ländern wie Uganda, Nigeria, Ghana, der Elfenbeinküste und Ecuador (außer Ecu 5, 10-13 der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103, CCN 31 und CCN 51) ließen sich bezüglich ihrer Herkunft nicht deutlich voneinander unterscheiden. Insgesamt niedrige Gehalte an FAA wiesen Proben der Herkünfte Ecuador, Haiti und Tansania auf. Die höchsten FAA-Gehalte wurden in Proben aus Madagaskar, Java und Papua-Neuguinea gemessen. Bezüglich verschiedener Aminosäuregehalte wurden über den Mittelwertvergleich Unterschiede zwischen den Herkünften festgestellt. Proben aus Indonesien unterschieden sich stark und können gut der jeweiligen Herkunft Java, Sulawesi und Sumatra zugeordnet werden.

Im Vergleich enthielten Proben mit geringerem FAA-Gesamtgehalt höhere Anteile an „sauren“ FAA und entsprechend niedrigere Anteile aus der Gruppe der „anderen“ FAA. Die Anteile waren bei Proben mit einem Gesamtgehalt von $14 \text{ mg g}^{-1} \text{ fFTM}$ ungefähr gleich. Bei größeren Gesamtgehalten kehrt sich das Verhältnis um.

Mit Ausnahme einiger sauer reagierender Aminosäuren und Aminosäuren, die nur in Spuren enthalten waren, waren die Gehalte der einzelnen FAA stark positiv mit dem Gesamtgehalt korreliert.

Ausgenommen hiervon war der GABA-Wert, der in den Proben aus Ecuador, Haiti, Tansania und einigen Nigeriaproben am höchsten war.

Im Gegensatz zum FAA-Gesamtgehalt wiesen alle südostasiatischen Proben niedrige bis mittlere Gehalte an Stickstoff auf, während in Proben aller anderen Herkünfte im Mittel höhere Gehalte detektiert wurden. Auch über die Messung des Rohproteingehaltes waren Indonesienproben in die drei Regionen Java, Sulawesi und Sumatra unterscheidbar. Außerdem konnten Javaproben von Proben aus Papua-Neuguinea differenziert werden. Proben von der Elfenbeinküste und aus Ghana zeigten tendenziell höhere Rohproteingehalte als Proben aus Nigeria, Togo und Uganda.

4.1.6 Fettgehalt und Fettzusammensetzung

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Fettuntersuchungen dargestellt. Hierzu zählen der Gesamtfettgehalt, die Fettsäurezusammensetzung und die Anteile der POP-, POS- und SOS-Triglyceride sowie abschließend der Anteil der freien Fettsäuren (FFA) und der Diglyceridanteil. Die Ergebnisse der beiden *T. grandiflorum*-Proben (Bra 1, 2) werden im Anschluss getrennt beschrieben, da sich ihre Fettzusammensetzung sehr stark von der des Rohkakaos unterscheidet.

4.1.6.1 Fettgehalt

Die Fettgehalte der Rohkakaoproben lagen zwischen 49,8% und 60,8% TM (MW 56,8% TM SD 2,2) (Abb. 66). Proben aus Ecuador, Venezuela, Madagaskar, Java, Sulawesi, Malaysia, Vanuatu und von den Salomonen wiesen im Mittel niedrigere Fettgehalte unterhalb des Mittelwertes auf. Nur Proben aus Trinidad, Papua-Neuguinea, der Elfenbeinküste und aus Sumatra wiesen einen Fettgehalt von über 60% auf. Fast alle übrigen Proben lagen in dem Bereich zwischen 56% und 60% TM Fettgehalt.

Das Ergebnis einer einfaktoriellen Varianzanalyse mit anschließendem *post-hoc*-Test ergab einen signifikanten Einfluss des Faktors Herkunft auf die Variable „Fettgehalt“ ($F_{(12, 39)} = 9,4^*$ bei $p = < 0,0001$, *signifikant, SQ und MQ-Effekt siehe Anhang Tab. 25). Über den *post-hoc*-Test wurden hinsichtlich der Fettgehalte der Proben signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen Herkünften nachgewiesen (Abb. 67).

Der Fettgehalt der *T. grandiflorum*-Proben lag bei 65,3 (Bra 1) und 73,0% TM (Bra 2).

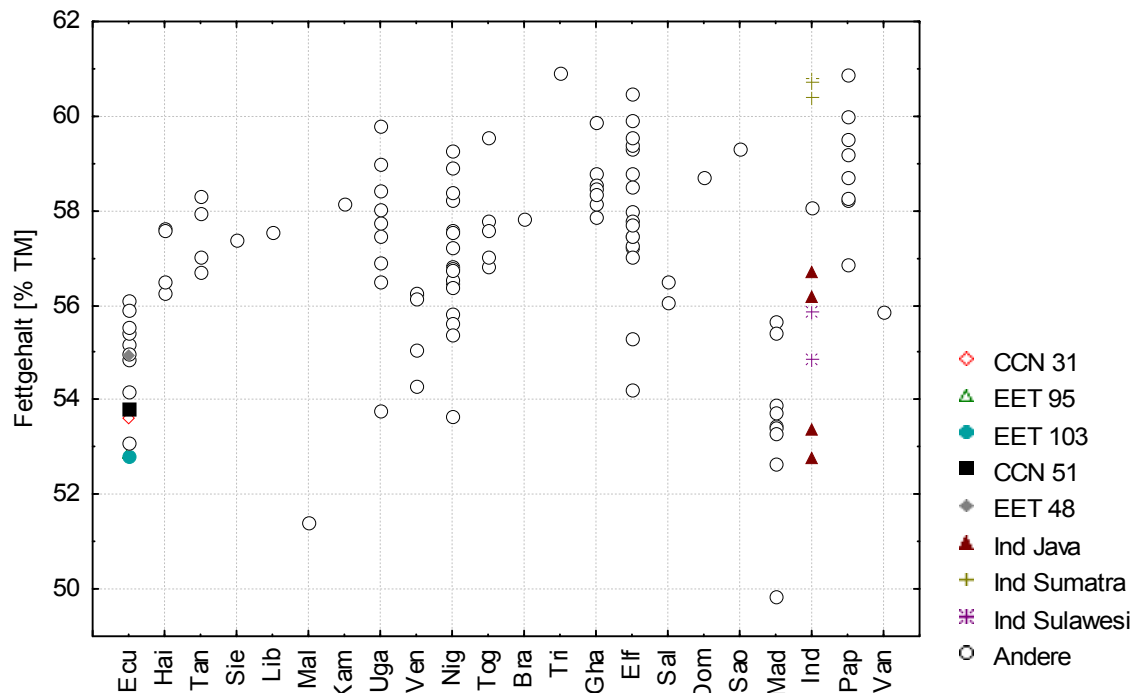


Abb. 66 Fettgehalt der Rohkakaoproben
 Dargestellt ist der Fettgehalt in % aller Proben sortiert nach Ländern. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

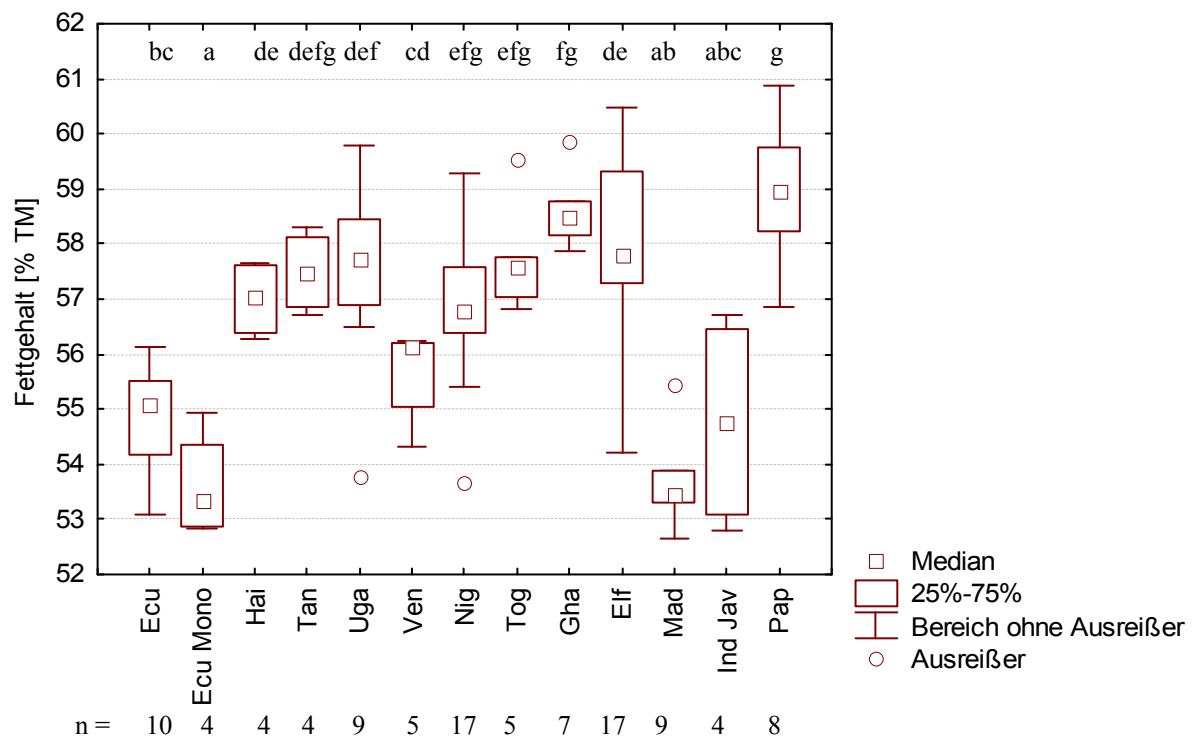


Abb. 67 Mittelwertvergleich: Fettgehalt der Rohkakaoproben
 Darstellung der Mediane (□), der 25-75-Perzentile und der Ausreißer (°) für alle Herkünfte mit $n \geq 4$ unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ (*post-hoc*-Test: LSD-Test nach ANOVA, $n = 4$; bei Herkünften mit $n > 4$ wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

4.1.6.2 Fettsäurezusammensetzung

Das Fett der 120 Rohkakaoproben setzte sich im Mittel zu 31,2-38,9% aus Stearinsäure, 31,4-38,5% aus Ölsäure, 23,9-30,7% aus Palmitinsäure, 2,1-4,1% Linolsäure und 0,8-1,3% Arachinsäure zusammen. Alle anderen untersuchten Fettsäuren summierten sich auf einen Anteil von ca. 2,4%, wobei die Anteile der einzelnen Fettsäuren bei unter 0,2% lagen (Abb. 68, Abb. 69).

Im Einzelnen werden folgend die Ergebnisse der Mengenanalyse der vier mengenmäßig bedeutendsten Fettsäuren Ölsäure, Palmitinsäure, Linolsäure und Arachinsäure dargestellt. Die Ergebnisse der anderen untersuchten Fettsäuren werden aufgrund der geringen Unterschiede zwischen den Proben nicht im Detail dargestellt: sie sind tabellarisch im Anhang aufgelistet (Anhang Tab. 19).

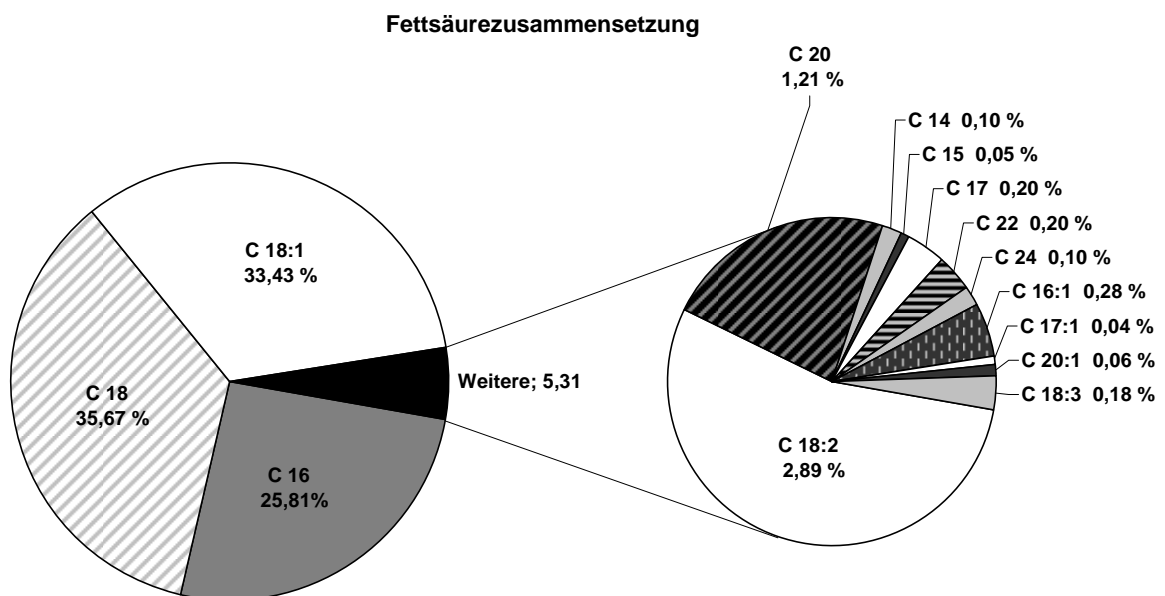


Abb. 68 Durchschnittliche Fettsäurezusammensetzung von 120 Rohkakaoproben
 Dargestellt sind die Mittelwerte von 120 Rohkakaoproben (ausgenommen *T. grandiflorum*-Proben)
 C 14 = Myristinsäure, C 15= Pentadecansäure, C 16 = Palmitinsäure, C 16:1 = Palmitoleinsäure,
 C 17 = Margarinsäure C 17:1 = delta-9-cis-Heptadecensäure, C 18 = Stearinsäure, C 18:1 = Öl-
 säure, C 18:2 = Linolsäure, C 18:3 = Linolensäure, C 20 = Arachinsäure, C 20:1 = Gadoleinsäure,
 C 22 = Behensäure und C 24 = Lignocerinsäure

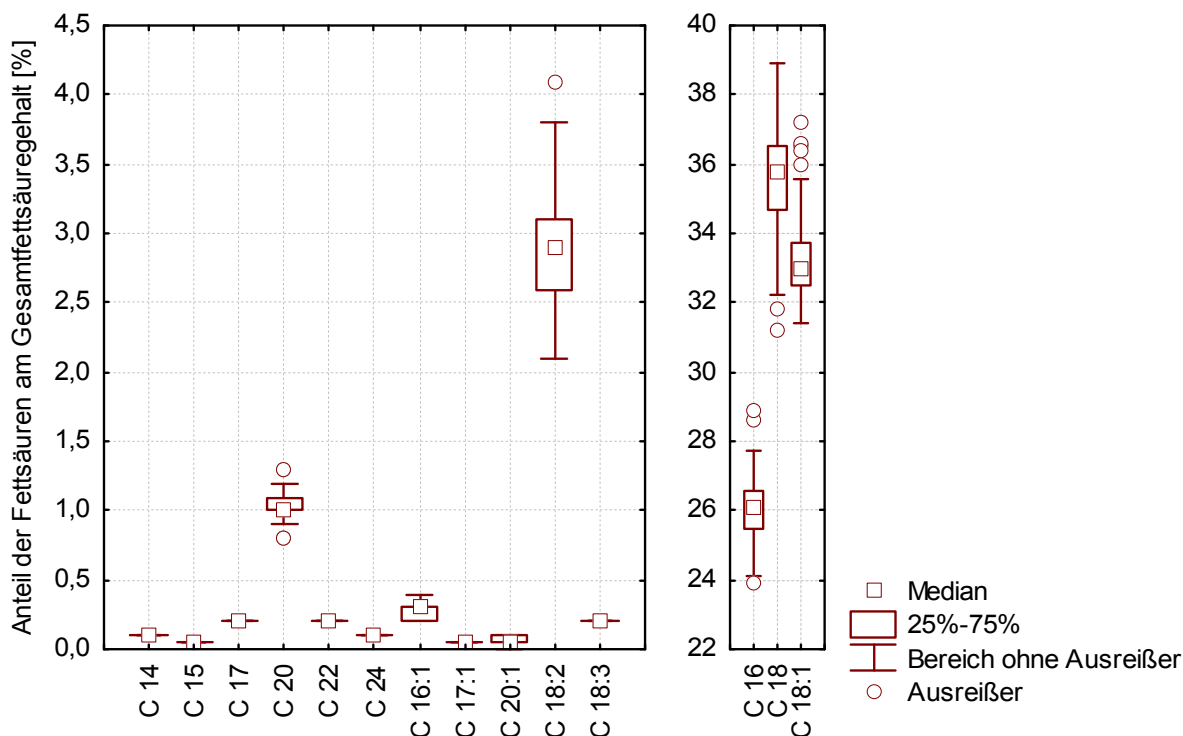


Abb. 69 Fettsäureverteilung: Wertebereich und Median der Fettsäuren \geq C 14
 Dargestellt sind hier die Mittelwerte (Median) und 25-75%-Wertebereiche der einzelnen Fettsäuren als Anteil am Gesamtfettgehalt (Trockenmasse). C 14 = Myristinsäure, C 15= Pentadecansäure, C 16 = Palmitinsäure, C 16:1 = Palmitoleinsäure, C 17 = Margarinsäure C 17:1 = delta-9-cis-Heptadecensäure, C 18 = Stearinsäure, C 18:1 = Öl-säure, C 18:2 = Linolsäure, C 18:3 = Linolensäure, C 20 = Arachinsäure, C 20:1 = Gadoleinsäure, C 22 = Behensäure und C 24 = Lignocerinsäure

4.1.6.3 Palmitinsäureanteil

Bei der Betrachtung des Palmitinsäureanteils fallen zunächst die Proben Ecu 5 (Genotyp CCN 31) und Ecu 12 (Genotyp CCN 51) aus Ecuador mit den Höchstwerten 30,7% und 30,6% auf (Abb. 70). Hohe Gehalte von 24,4% bis 27,7% wurden außerdem in Proben aus Java, Haiti, Madagaskar und Venezuela festgestellt, niedrigere Gehalte unter 25% wurden nur in Proben aus Uganda, Tansania und Papua-Neuguinea nachgewiesen. Die Streuung der Werte innerhalb der Herkünfte war nur gering. Die ostafrikanischen Proben enthielten mit Ausnahme der madagassischen Proben im Mittel geringere Palmitinsäureanteile als die der westafrikanischen Herkünfte (siehe Anhang Tab. 23). Der Herkunftseffekt nach einfaktorieller Varianzanalyse nach ANOVA ist signifikant ($F_{(12, 39)} = 8,12^*$ bei $p < 0,0001$, *signifikant, SQ und MQ-Effekt siehe Anhang Tab. 25). Auch im Mittelwertvergleich wurden signifikante Unterschiede zwischen den Herkünften festgestellt (Abb. 71).

In Proben der Art *T. grandiflorum* lag der Palmitinsäureanteil bei 6,4% (Bra 1) und 6,0% (Bra 2).

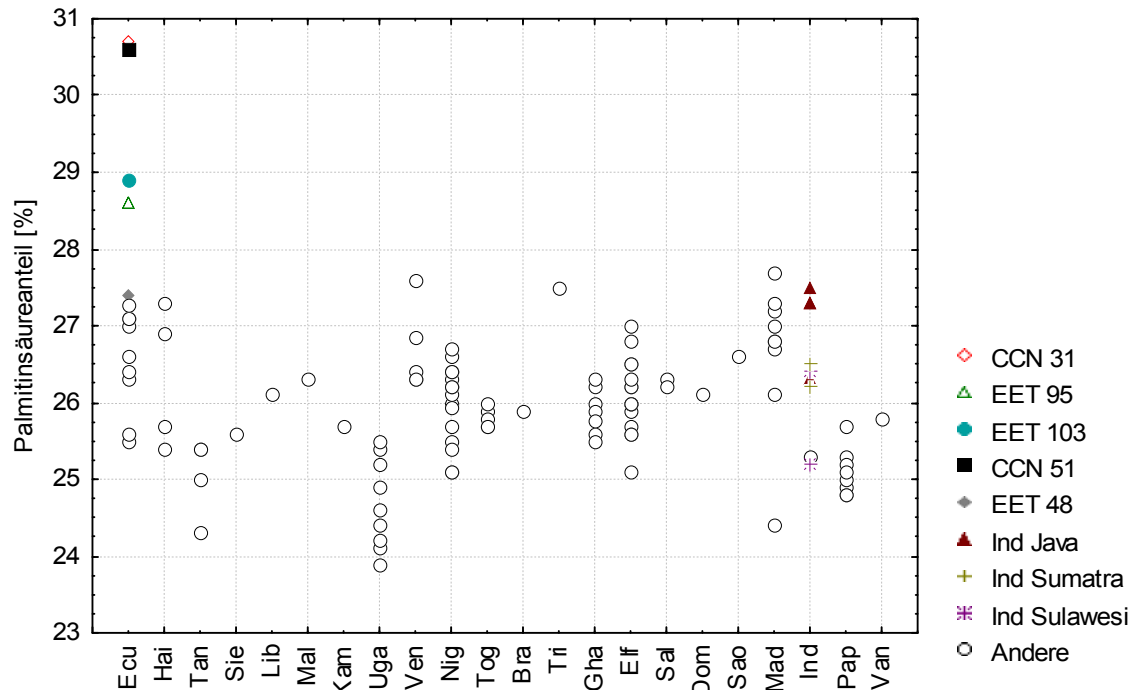


Abb. 70 Palmitinsäureanteil in % am Gesamtfettsäuregehalt der Rohkakaoproben
 Dargestellt ist der Palmitinsäureanteil am Gesamtfettsäuregehalt aller Proben sortiert nach Ländern. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

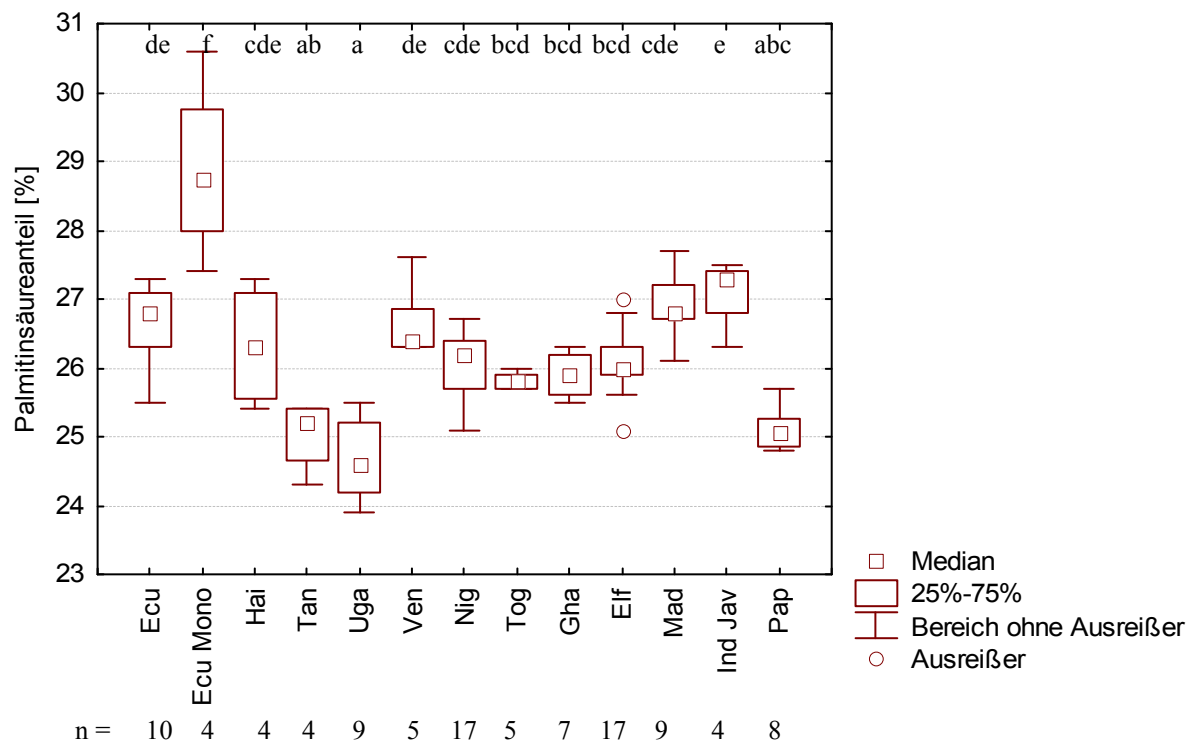


Abb. 71 Mittelwertvergleich: Palmitinsäureanteil der Rohkakaoproben
 Darstellung der Mediane (□), der 25-75-Perzentile und der Ausreißer (°) für alle Herkünfte mit n ≥ 4 unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von p < 0,05 (post-hoc-Test: LSD-Test nach ANOVA, n = 4; bei Herkünften mit n > 4 wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

4.1.6.4 Stearinsäureanteil

Der Stearinsäureanteil lag zwischen 31,2% und 38,9% (MW 35,6% SD 1,4) (Abb. 72). Die vier Proben Elf 9, Elf 12, Gha 7 und Bra 3 wiesen mit 31,1%, 31,1%, 31,7% und 31,8% die niedrigsten Stearinsäureanteile auf. In Proben aus Papua-Neuguinea wurden mit Werten zwischen 37,5% und 38,9% die höchsten Gehalte festgestellt. Die herkunftsspezifische Schwankungsbreite war, abgesehen von Proben aus Ecuador, relativ gering. Über die einfaktorielle Varianzanalyse wurde ein signifikanter Effekt des Faktors Herkunft auf die Variabel „Stearinsäureanteil“ festgestellt ($F_{(12, 39)} = 12,6^*$ bei $p < 0,0001$, *signifikant, SQ und MQ-Effekt siehe Anhang Tab. 25). Der Mittelwertvergleiches ergab über den anschließend durchgeführten *post-hoc*-Test hinsichtlich des Stearinsäureanteils signifikante Unterschiede zwischen Papua-Neuguinea und allen anderen Herkünften (Abb. 73).

In Proben der Art *T. grandiflorum* lag der Stearinsäureanteil bei 44,3% (Bra 1) und 35,2% (Bra 2).

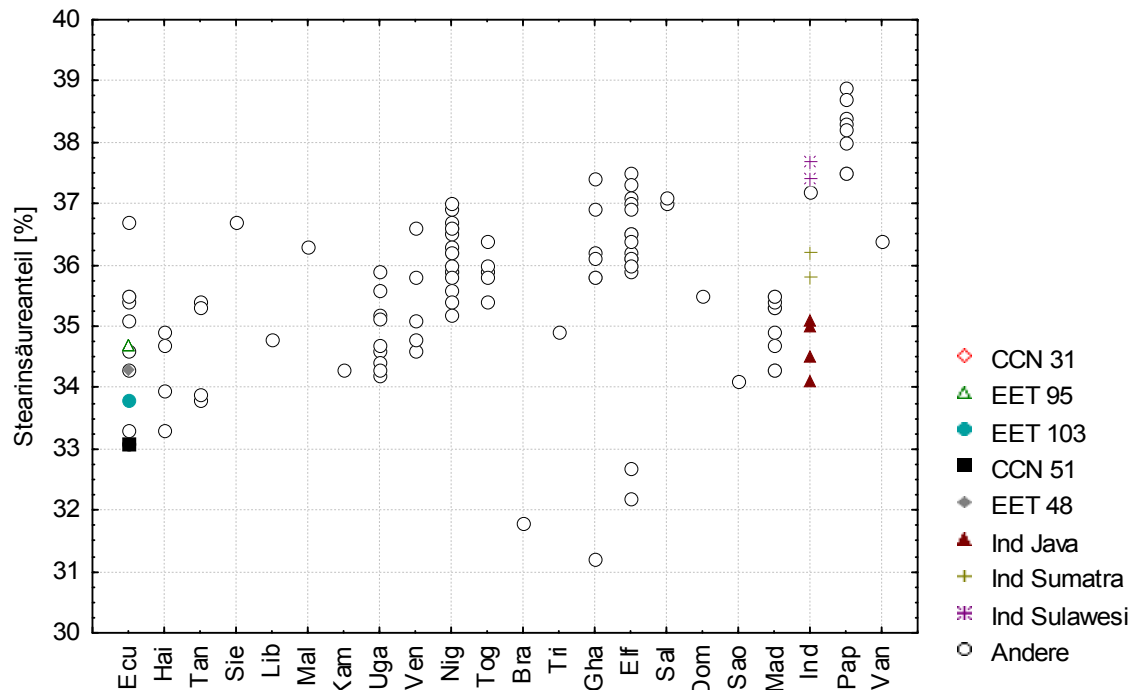


Abb. 72 Stearinsäureanteil in % am Gesamtfettsäuregehalt der Rohkakaoproben
 Dargestellt sind die Stearinsäuregehalte am Gesamtfettsäuregehalt aller Proben sortiert nach Ländern. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol \circ dargestellt.

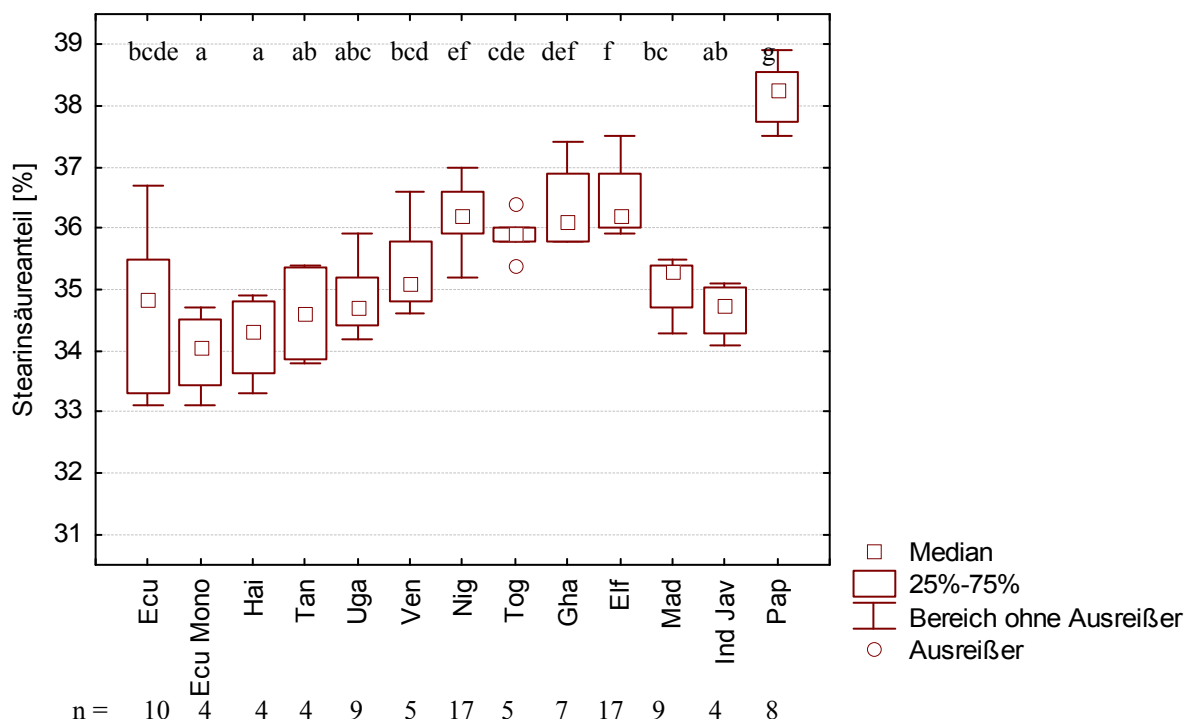


Abb. 73 Mittelwertvergleich: Stearinsäureanteil der Rohkakaoproben
 Darstellung der Mediane (□), der 25-75-Perzentile und der Ausreißer (°) für alle Herkünfte mit n ≥ 4 unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von p < 0,05 (post-hoc-Test: LSD-Test nach ANOVA, n = 4 ; bei Herkünften mit n > 4 wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

4.1.6.5 Ölsäureanteil

Der Ölsäureanteil der Proben lag zwischen 31,4% und 38,5% (MW 33,3 SD 1,3) (Abb. 74). Die Proben Ecu 9; Elf 12, 17; Bra 3; Gha 7 und Pap 6 wiesen die höchsten Ölsäureanteile > 36% auf. Proben aus Ecuador, aber auch Proben aus Papua-Neuguinea die niedrigsten. Im Vergleich zu anderen afrikanischen Proben zeichneten sich Proben aus Uganda durch sehr hohe Ölsäureanteile aus. Über die einfaktorielle Varianzanalyse wurde ein signifikanter Effekt des Faktors Herkunft auf die Variabel „Ölsäureanteil“ festgestellt ($F_{(12, 39)} = 9,1^*$ bei p < 0,0001, *signifikant, SQ und MQ-Effekt siehe Anhang Tab. 25). Der Mittelwertvergleich ergab über den anschließend durchgeführten post-hoc-Test hinsichtlich des Ölsäureanteils signifikante Unterschiede zwischen den Herkünften (Abb. 75).

In Proben der Art *T. grandiflorum* lag der Ölsäureanteil bei 35,4% (Bra 1) und 39,6% (Bra 2).

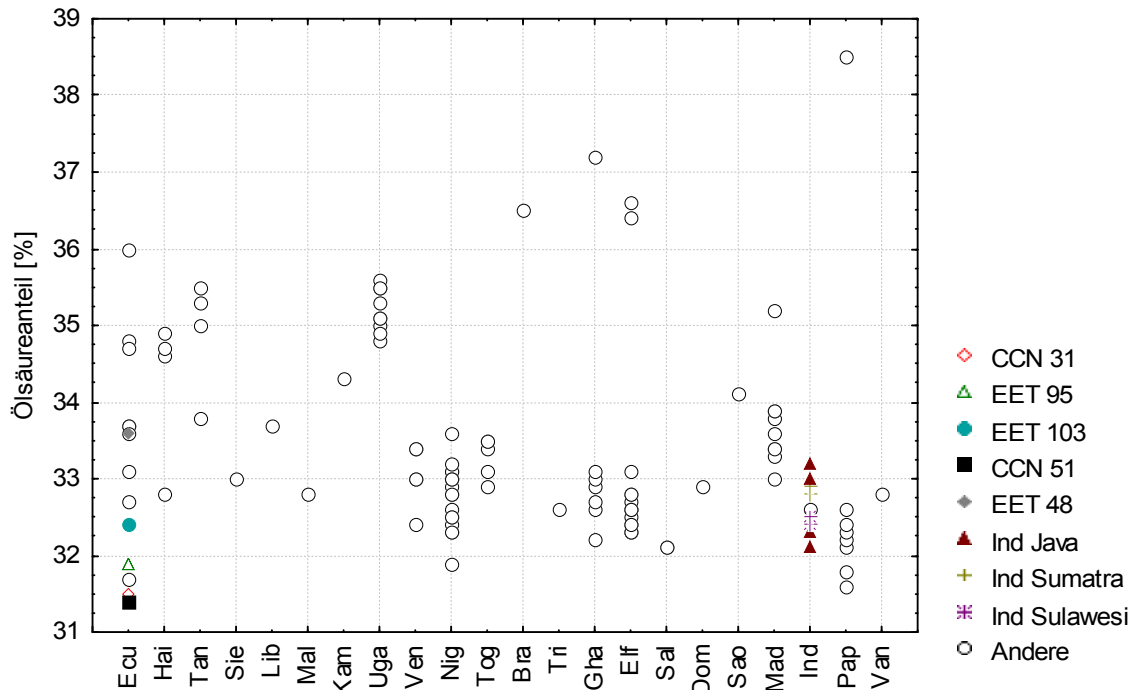


Abb. 74 Ölsäureanteil in % am Gesamtfettsäuregehalt der Rohkakaoproben
 Dargestellt sind die Ölsäureanteile aller Proben sortiert nach Ländern. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

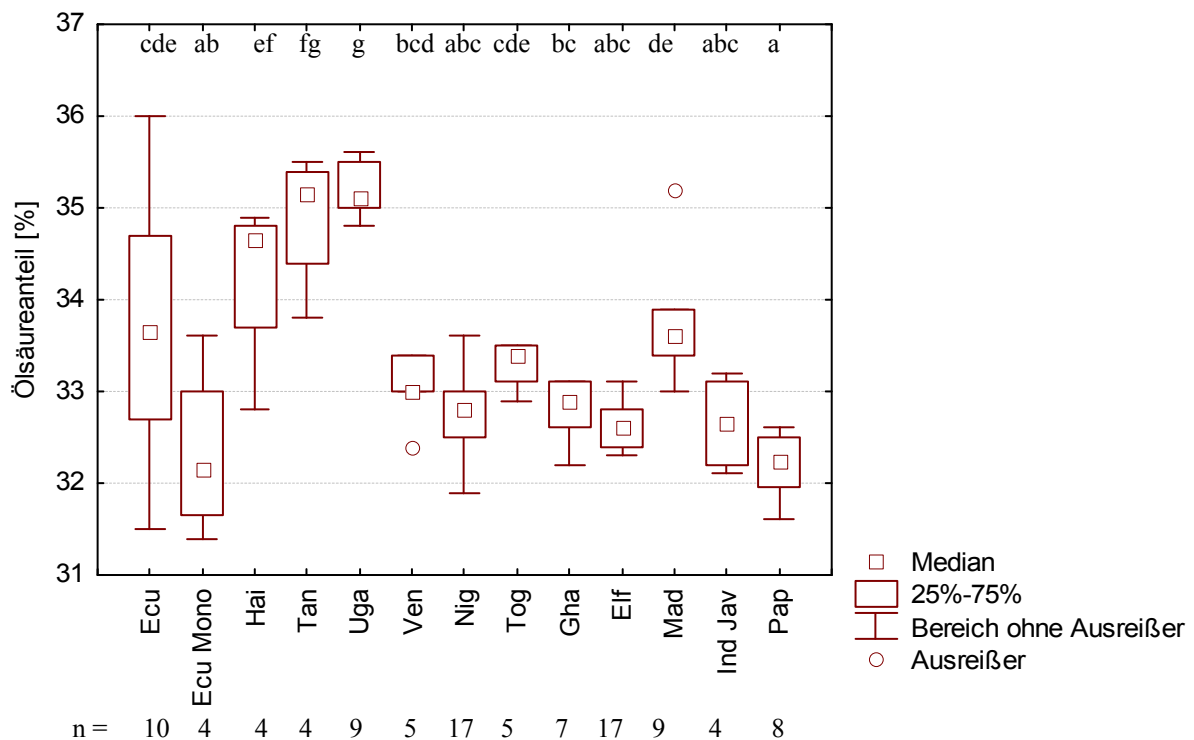


Abb. 75 Mittelwertvergleich: Ölsäureanteil der Rohkakaoproben
 Darstellung der Mediane (□), der 25-75-Perzentile und der Ausreißer (°) für alle Herkünfte mit $n \geq 4$ unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ (*post-hoc*-Test: LSD-Test nach ANOVA, $n = 4$; bei Herkünften mit $n > 4$ wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

4.1.6.6 Linolsäureanteil

Der Anteil an Linolsäure variierte zwischen 2,1% und 4,1% des Gesamtfettsäuregehaltes (MW 2,89 SD 0,39) (Abb. 76). In Proben aus Madagaskar, von den Salomonen und aus Malaysia wurden mit Werten von 2,1% die niedrigsten Gehalte festgestellt; die höchsten Gehalte wurden in Proben aus Tansania (4,1%), Uganda (3,6%), Java (3,5%) und Haiti (3,6%) gemessen. Über die einfaktorielle Varianzanalyse wurde ein signifikanter Effekt des Faktors Herkunft festgestellt ($F_{(12, 39)} = 9,00^*$ bei $p < 0,0001$, *signifikant, SQ und MQ-Effekt siehe Anhang Tab. 25). Das Ergebnis des anschließend durchgeführten *post-hoc*-Testes ergab hinsichtlich des Linolsäureanteils signifikante Unterschiede zwischen Proben aus Tansania und allen anderen Herkünften (Abb. 77).

In Proben der Art *T. grandiflorum* lag der Linolsäureanteil bei 2,5% (Bra 1) und 3,3% (Bra 2).

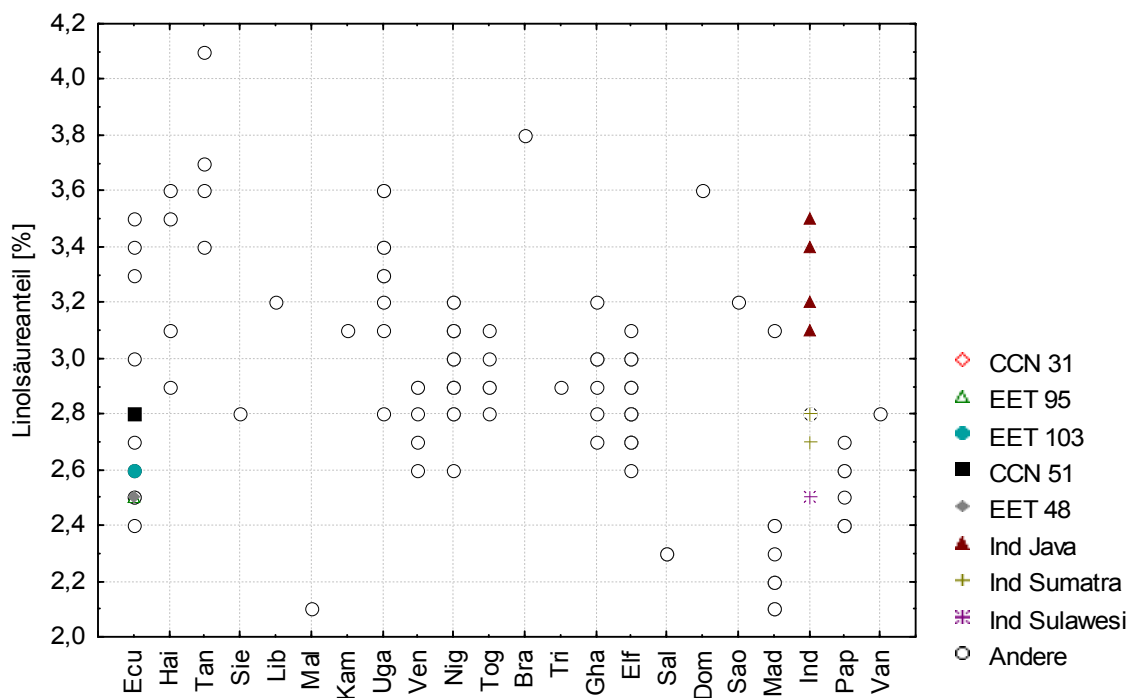


Abb. 76 Linolsäureanteil in % des Gesamtfettgehaltes der Rohkakaoproben Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

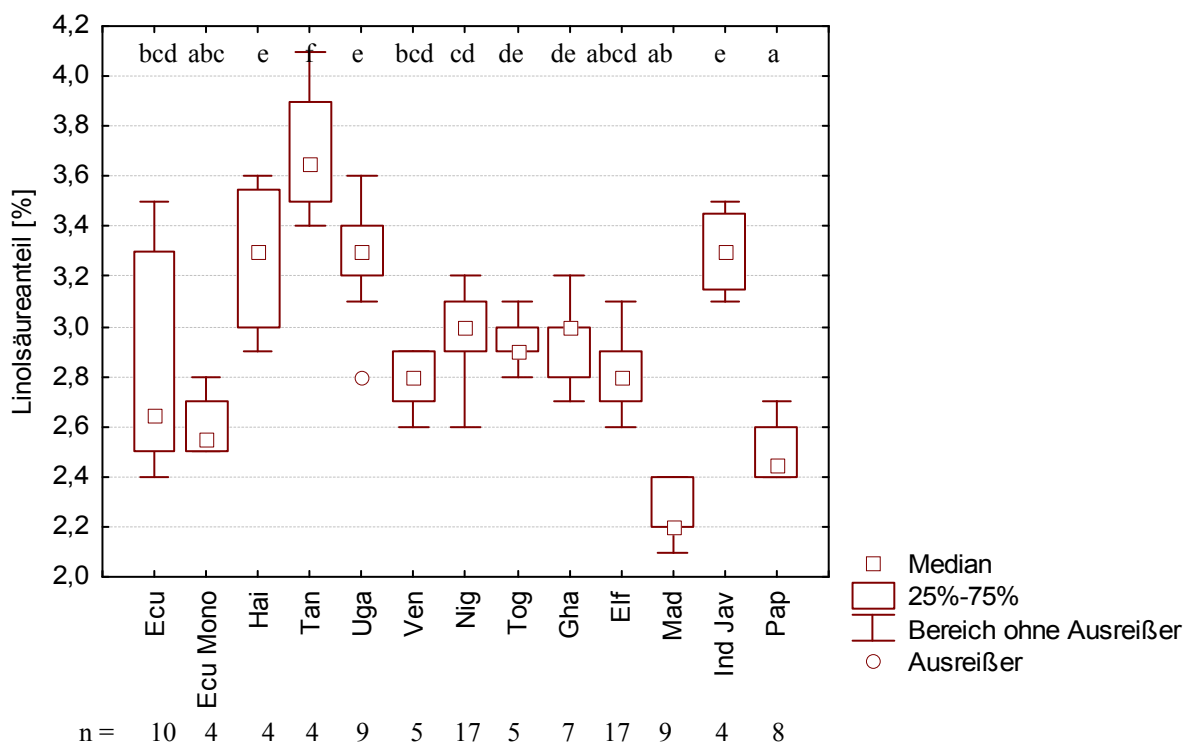


Abb. 77 Mittelwertvergleich: Linolsäureanteil der Rohkakaoproben
 Darstellung der Mediane (□), der 25-75-Perzentile und der Ausreißer (°) für alle Herkünfte mit $n \geq 4$ unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ (*post-hoc*-Test: LSD-Test nach ANOVA, $n = 4$; bei Herkünften mit $n > 4$ wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

4.1.6.7 Anteil an freien Fettsäuren

Insgesamt wies ca. ein Viertel (26%) der Proben einen Anteil an freien Fettsäuren auf, die über dem von der EU festgesetzten Höchstmaß von 1,75% lagen (siehe Kapitel 2.2.5). Zu diesen Proben zählten die Haitiprobe Hai 2-4 und die afrikanischen Proben Elf 4, 6-10, 14, 17; Uga 2, 7-9; Nig 3, 6, 15; Kam 1; Lib 1 und Sie 1 (Ergebnistabelle siehe Anhang Tab. 19).

4.1.6.8 Gehalt an Diglyceriden

Der Diglyceridanteil des Fettes in den Proben lag zwischen 0,1% und 2,7% (MW 0,98 SD 0,35) (Abb. 78). Über 90% aller Werte lagen in dem Bereich zwischen 0,2% und 1,4%: die herkunftsspezifische Streuung der Werte war für alle Herkünfte gering. Mit einer sehr hohen Wertespanne bildeten die Proben aus Haiti und Uganda eine Ausnahme. Die höchsten Diglyceridanteile wiesen die Proben Hai 3, Hai 4, Uga 8, Uga 9 und Kam 1 auf (Ergebnistabelle siehe Anhang Tab. 19).

Die Varianzanalyse zur Überprüfung des Herkunft-Effektes ergab einen signifikanten Einfluss des Faktors Herkunft auf die Variable „Diglyceridgehalt“ ($F_{(12, 39)} = 2,25^*$ bei $p = 0,0277$, *signifikant, SQ- und MQ-Effekt siehe Anhang Tab. 25). Der geringe F-Wert macht jedoch deutlich, dass dieser Einfluss nicht so stark ausgeprägt ist, wie es bei anderen Parametern festgestellt wurde (Abb. 79).

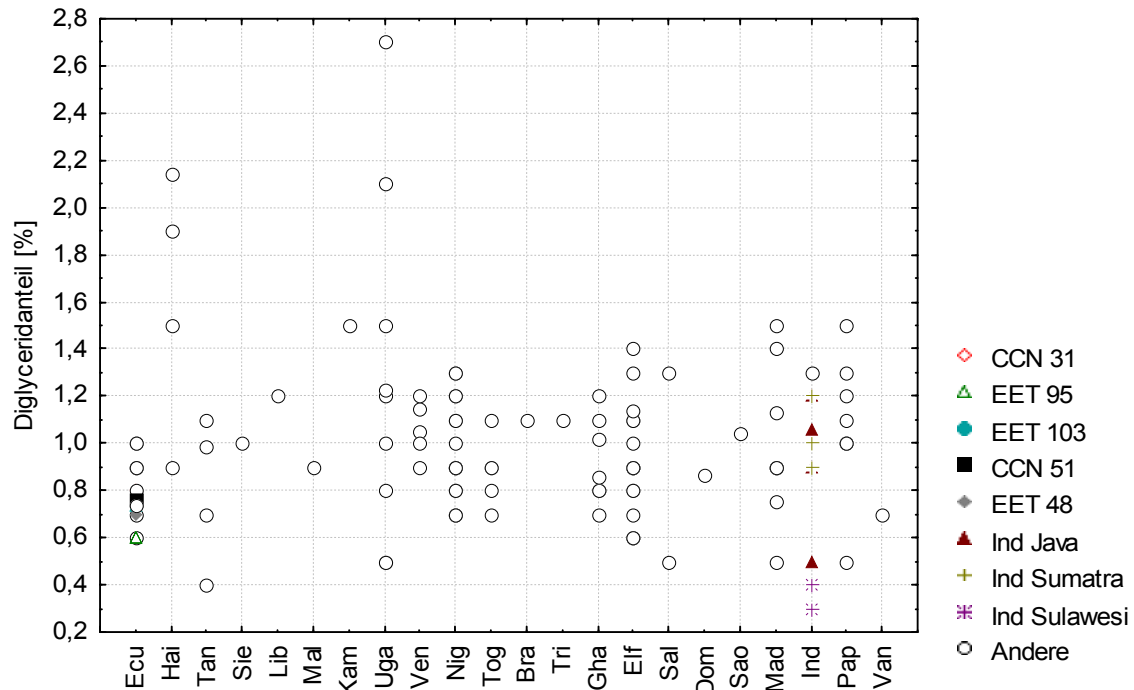


Abb. 78 Diglyceridanteil in % am Gesamtfettgehalt der Rohkakaoproben
 Dargestellt sind die Diglyceridanteile am Gesamtfettgehalt aller Proben sortiert nach Ländern Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

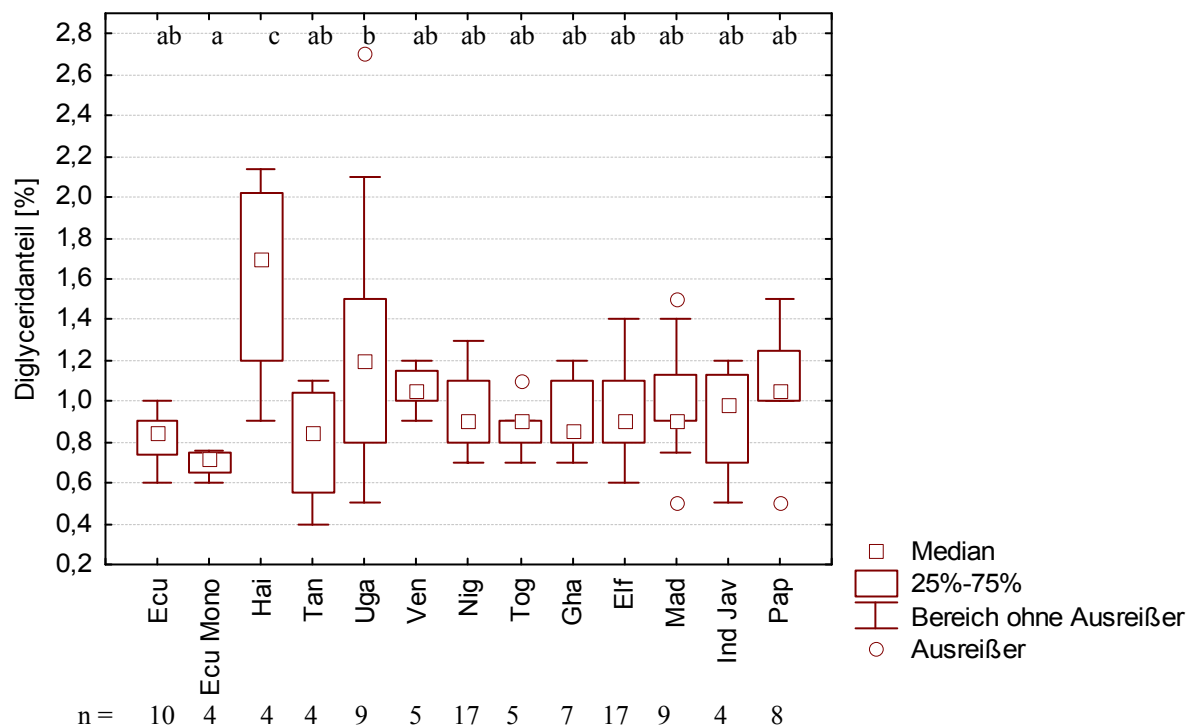


Abb. 79 Mittelwertvergleich: Diglyceridanteil am Gesamtfettgehalt von Rohkakao
 Darstellung der Mediane (□), der 25-75-Perzentile und der Ausreißer (°) für alle Herkünfte mit $n \geq 4$ unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ (*post-hoc*-Test: LSD-Test nach ANOVA, $n = 4$; bei Herkünften mit $n > 4$ wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

4.1.6.9 Triglyceride

Von den Triglyceriden wurden die mengenmäßig wichtigsten drei, nämlich Palmitinsäure-Ölsäure-Palmitinsäure (POP), Palmitinsäure-Ölsäure-Stearinsäure (POS) und Stearinsäure-Ölsäure-Stearinsäure (SOS) untersucht. Von den genannten Triglyceriden macht der Anteil an POP zwischen 15,9 und 24,3%, der der POS zwischen 46% und 49,2% und der der SOS zwischen 27,2% und 37,1% aus.

Palmitin-Ölsäure-Palmitinsäure

Der Anteil an Palmitin-Ölsäure-Palmitinsäure-Triglyceriden (POP) an den drei untersuchten Triglyceriden lag im Mittel bei 18,8% (SD 1,3) (Abb. 80). Ecuadorproben, insbesondere die Proben CCN 31 und CCN 51 wiesen von allen Proben mit über 23% die höchsten Anteile an POP auf. Hohe Anteile über 20% wiesen nur noch Proben aus Java, Madagaskar, Venezuela, Brasilien, der Dominikanischen Republik und Trinidad auf. Besonders niedrige Anteile, bis unter 17%, wurden nur in Proben aus Papua-Neuguinea festgestellt.

Die Varianzanalyse zur Überprüfung des Herkunft-Effektes ergab einen signifikanten Einfluss des Faktors Herkunft auf die Variable „POP-Triglyceridanteil“ ($F_{(12, 39)} = 7,91^*$ bei $p < 0,0001$, *signifikant, SQ- und MQ-Effekt siehe Anhang Tab. 25).

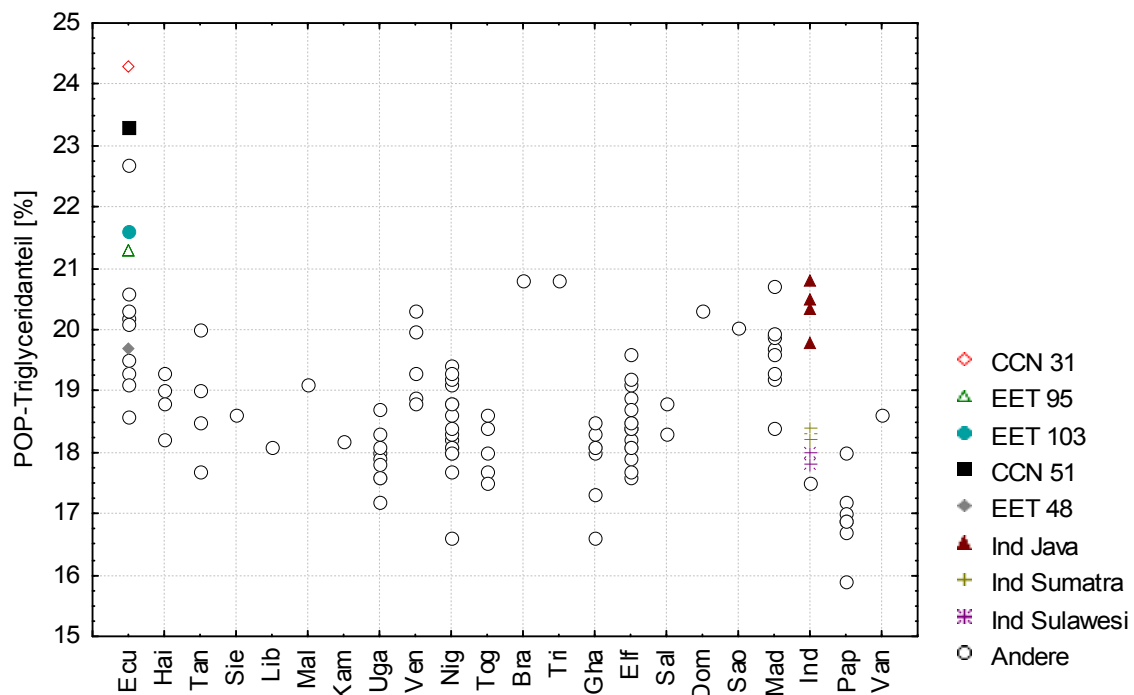


Abb. 80 POP-Triglyceridanteil in % der Rohkakaoproben
 Dargestellt ist der POP-Triglyceridanteil in % am Gesamtfettgehalt der Proben sortiert nach Ländern. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

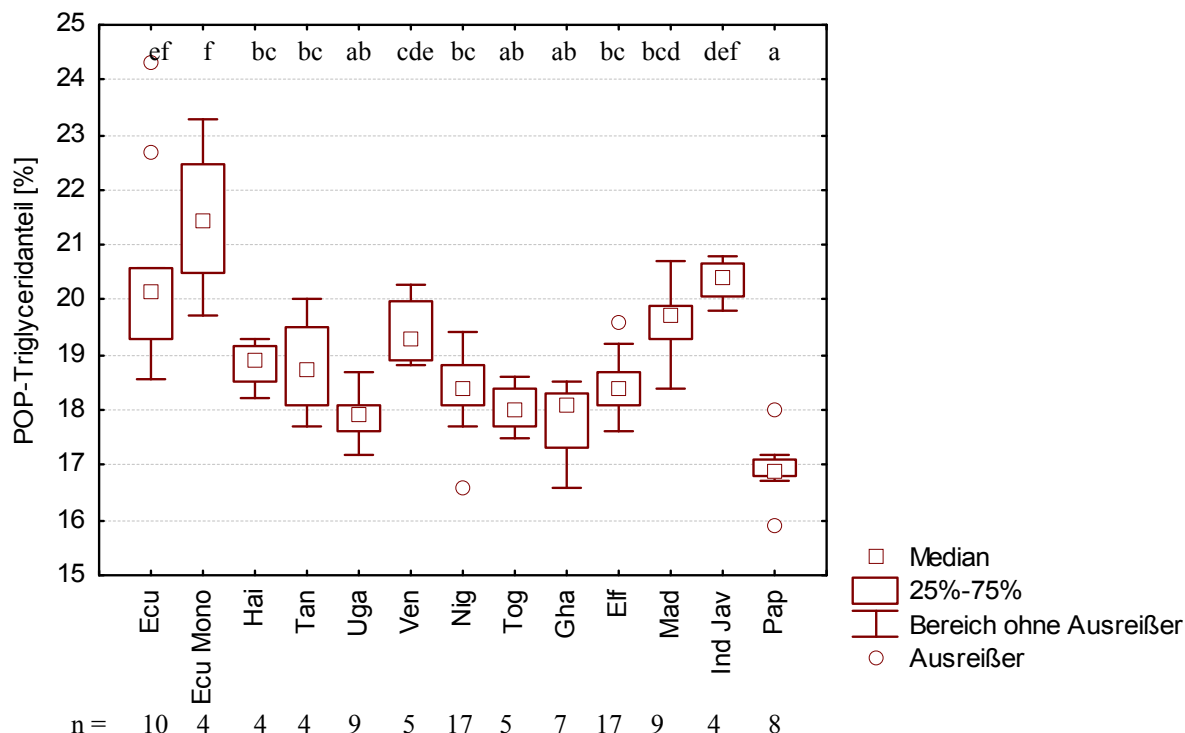


Abb. 81 Mittelwertvergleich: POP-Triglyceridanteil der Rohkakaoproben
 Darstellung der Mediane (\square), der 25-75-Perzentile und der Ausreißer ($^{\circ}$) für alle Herkünfte mit $n \geq 4$ unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ (*post-hoc*-Test: LSD-Test nach ANOVA, $n = 4$; bei Herkunft mit $n > 4$ wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

In Proben der Art *T. grandiflorum* lag der POP-Triglyceridanteil bei 2,5% und 2,7% (Bra 1, Bra 2).

Palmitin-Ölsäure-Stearinsäure

Bei über 85% der Proben lag der Anteil von Palmitin-Ölsäure-Stearinsäure-Triglyceriden (POS) in einem engen Wertebereich zwischen 47% und 48,5% (MW 47,8% SD 0,58) (Abb. 82). Die höchsten Anteile wurden bei den Proben CCN 51 und EET 103 gemessen, während Papua-Neuguinea-Proben im Mittel die niedrigsten Anteile aufwiesen. Indonesische Proben der verschiedenen Regionen unterschieden sich untereinander nicht signifikant bezüglich dieses Parameters.

Die Varianzanalyse zur Überprüfung des Herkunft-Effektes bestätigte einen signifikanten Einfluss des Faktors Herkunft auf die Variable „POS-Triglyceridanteil“ ($F_{(12, 39)} = 6,56^*$ bei $p = < 0,0001$, *signifikant, SQ- und MQ-Effekt siehe Anhang Tab. 25).

In Proben der Art *T. grandiflorum* lag der POS-Triglyceridanteil bei 23,4% (Bra 1) und 24,1% (Bra 2).

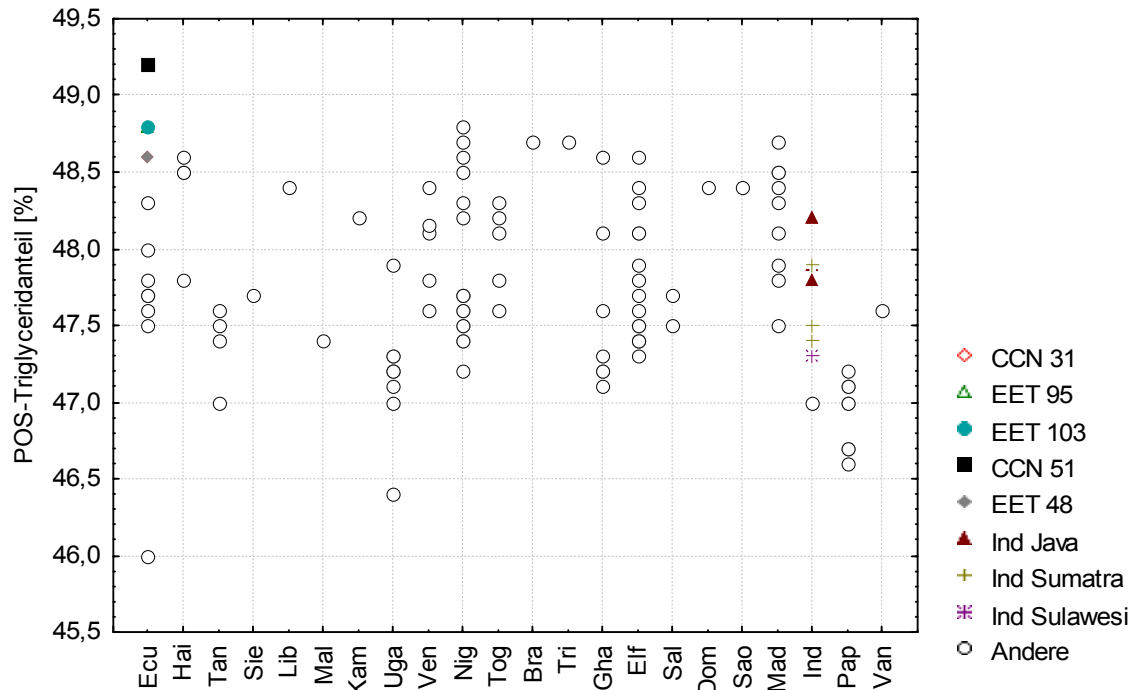


Abb. 82 POS-Triglyceridanteil in % der Rohkakaoproben
 Dargestellt ist der POS-Triglyceridanteil der Proben, sortiert nach Ländern. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

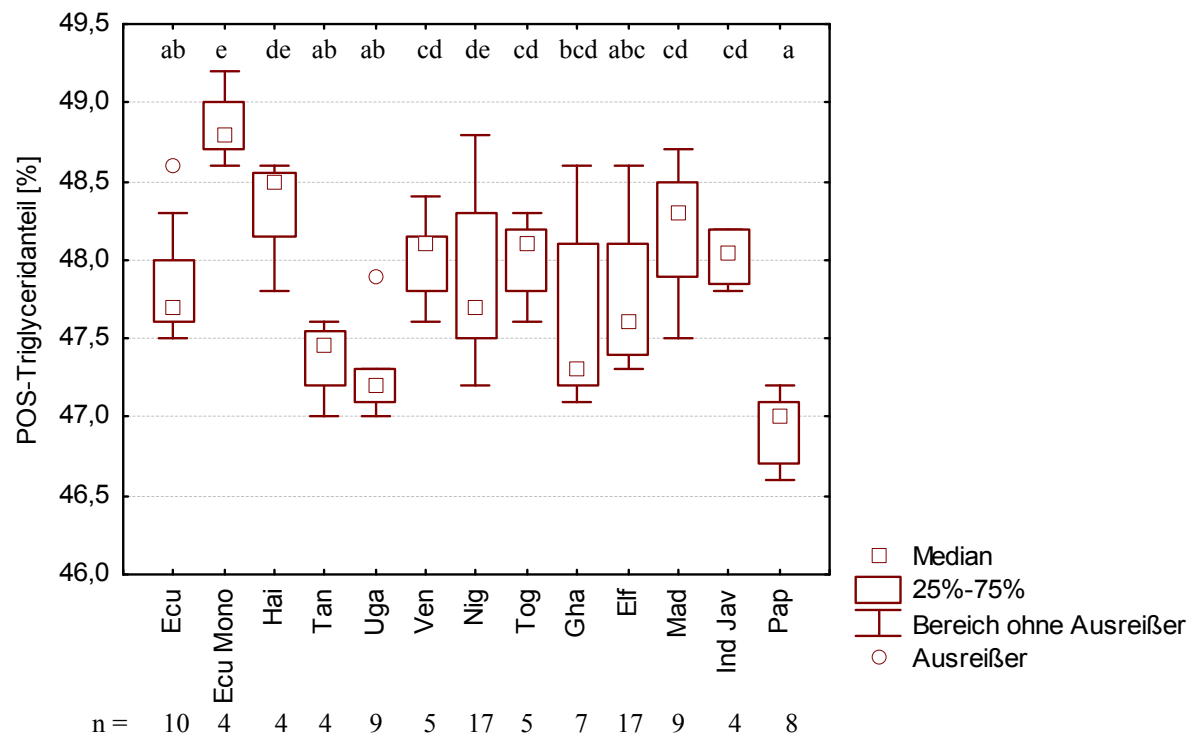


Abb. 83 Mittelwertvergleich: POS-Triglyceridanteil der Rohkakaoproben
 Darstellung der Mediane (□), der 25-75-Perzentile und der Ausreißer (°) für alle Herkünfte mit $n \geq 4$ unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ (*post-hoc*-Test: LSD-Test nach ANOVA, $n = 4$; bei Herkünften mit $n > 4$ wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

Stearinsäure-Ölsäure-Stearinsäure

Proben aus Papua-Neuguinea enthielten mit 34,8 bis 37,1% die höchsten Anteile an Stearinsäure-Ölsäure-Stearinsäure-Triglyceriden (SOS), während die Ecuadorproben Ecu 5 und 12 (entsprechen Genotyp CCN 31 und CCN 51) mit 27,2 und 27,6% die niedrigsten Werte aufwiesen; das arithmetische Mittel lag bei 33,4% (SD 1,7) (Abb. 84). Von den indonesischen Proben konnten die Proben aus Java von denen aus Sulawesi und Sumatra gut durch ihre niedrigeren SOS-Werte unterschieden werden. Bei Proben der Herkünfte Uganda, Tansania und Papua-Neuguinea zeichnete sich eine Tendenz zu höheren Werten ab, die Unterschiede zu anderen Herkünften waren aber nicht sehr deutlich.

Die Varianzanalyse zur Überprüfung des Herkunft-Effektes bestätigte einen signifikanten Einfluss des Faktors Herkunft auf die Variable „SOS-Triglyceridanteil“ ($F_{(12, 39)} = 10,37^*$ bei $p = <0,0001$, *signifikant, SQ- und MQ-Effekt siehe Anhang Tab. 25).

In Proben der Art *T. grandiflorum* lag der SOS-Triglyceridanteil bei 74,1% (Bra 1) und 73,2% (Bra 2).

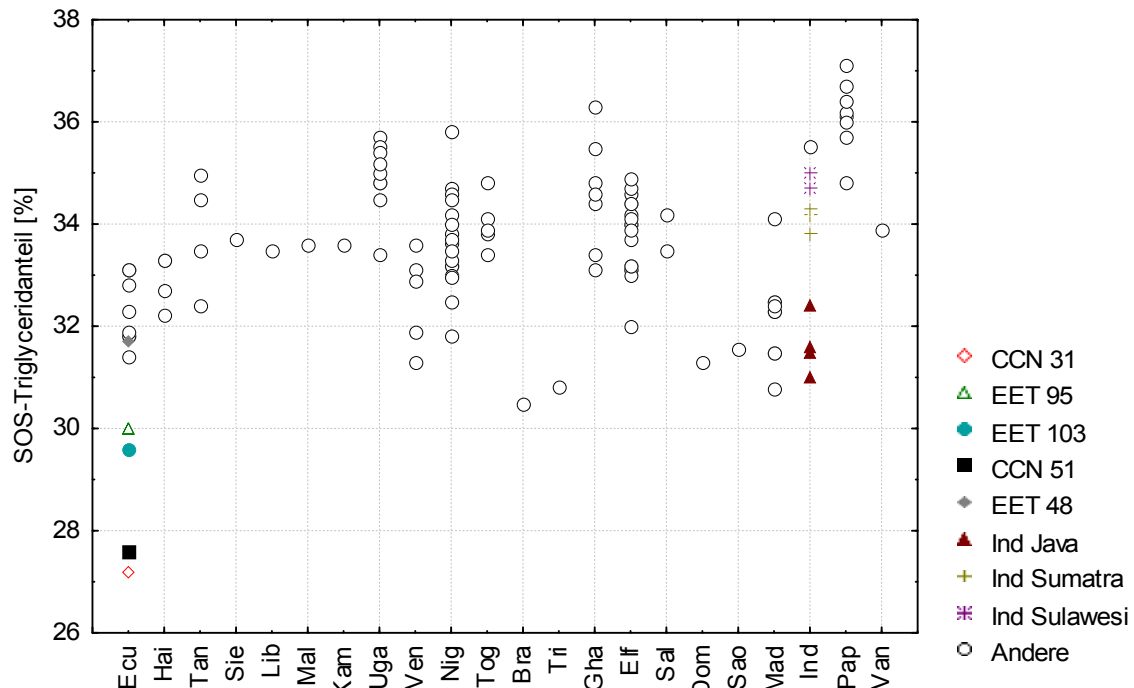


Abb. 84 SOS-Triglyceridanteil der Rohkakaoproben
 Dargestellt ist der SOS-Triglyceridanteil aller Proben sortiert nach Ländern. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

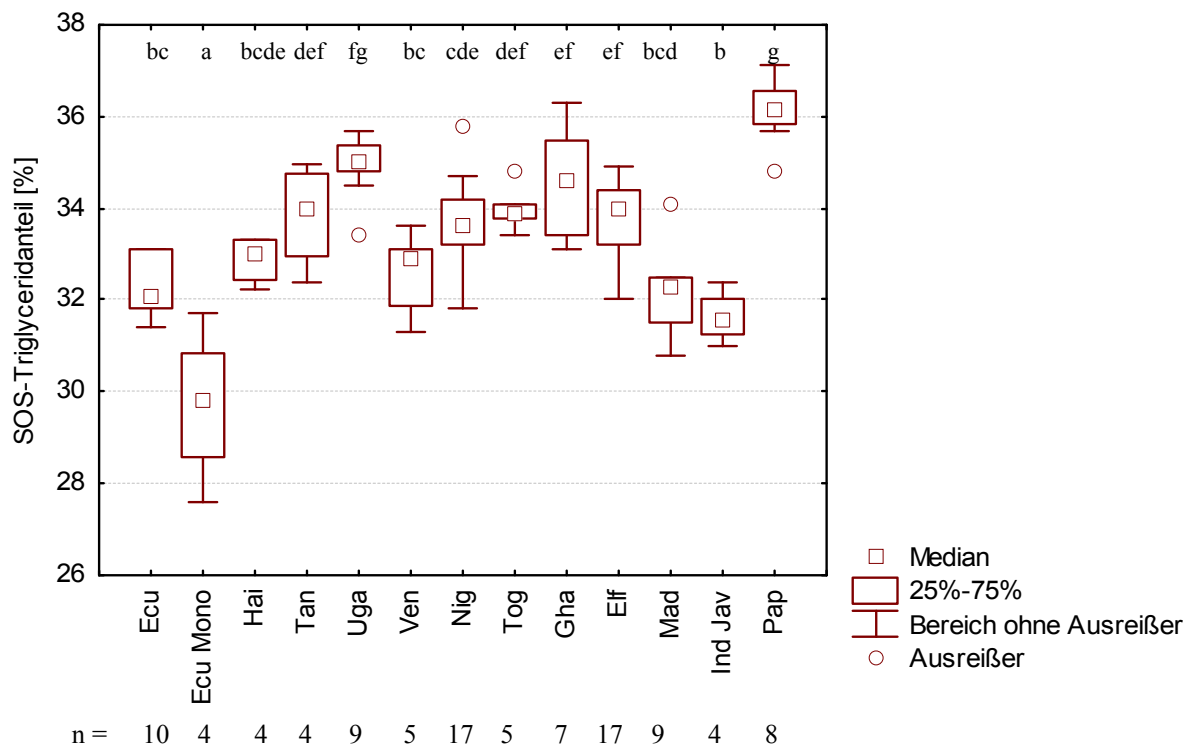


Abb. 85 Mittelwertvergleich: SOS-Triglyceridanteil der Rohkakaoproben
 Darstellung der Mediane (□), der 25-75-Perzentile und der Ausreißer (°) für alle Herkünfte mit $n \geq 4$ unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ (*post-hoc*-Test: LSD-Test nach ANOVA, $n = 4$; bei Herkünften mit $n > 4$ wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

4.1.6.10 Zusammenfassung

Die verschiedenen Fettwerte zeigten eine hohe Variabilität bezogen auf die Gesamtprobenanzahl. Innerhalb der Herkünfte zeigten die Ergebnisse bis auf die Proben der Elfenbeinküste (Fettgehalt) und Ecuador (Ölsäure-, Linolsäureanteil) eine sehr niedrige Variationsbreite. Im Vergleich mit den Ergebnissen der vorherigen Kapitel zeigte sich bei der Analyse der Fettwerte ein anderes Bild. Die bei den anderen Parametern aufgewiesenen vergleichbaren Spannbreite der Proben aus Madagaskar, Java und Papua-Neuguinea wurden nicht festgestellt. Vielmehr unterschieden sich die Fettgehalte, Stearinsäure-, und Palmitinsäureanteile sowie die Anteile der POP-, POS- und SOS-Triglyceride der Papua-Neuguineaproben deutlich von denen der madagassischen und javanischen Proben. Eine Ausnahme bildet der Diglyceridanteil: Hier unterschieden sich nur Proben aus Haiti und Uganda von anderen Proben. Außerdem konnten Proben aus Uganda und Tansania von anderen afrikanischen Proben anhand ihrer hohen Ölsäureanteile und niedrigen Palmitinsäuregehalte unterschieden werden.

4.1.7 Schnitt-Test

4.1.7.1 Gewicht der Rohkakaosamen

Die Mittelwerte der Samengewichte der Proben (bestehend aus Kotyledonen, Testa und anhaftender Pulpa sowie Radikula) lagen zwischen 0,6 g und 1,7 g, wobei die Mediane bei 90% der Proben zwischen 0,9 g und 1,3 g lagen (Abb. 86, Abb. 88). Die Proben Uga 5, 2, 6 und Nig 5 wiesen mit Werten zwischen 0,6 und 0,9 g die niedrigsten Mediane auf. Die im Mittel schwersten Rohkakaosamen wurden bei Proben aus Ecuador, Papua-Neuguinea und Java festgestellt, wobei die Proben Ecu 10-13 (entsprechen den Genotypen EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) mit 1,4-1,8 g die Maxima darstellten. Eine Ausnahme bildete CCN 51 mit einem mittleren Samengewicht von nur 1,3 g. Die beiden *T. grandiflorum*-Proben wiesen Samengewichte von 1,8 und 2,1 g auf.

Um zu überprüfen, ob sich Proben unterschiedlicher Herkunft bezüglich ihres Samengewichtes unterscheiden, wurde eine einfaktorielle Varianzanalyse mit anschließendem *post-hoc*-Test durchgeführt. Das Ergebnis verifiziert einen signifikanten Einfluss des Faktors Herkunft auf die Variable „Samengewicht“ ($F_{(12, 39)} = 12,32$ bei $p = 0,0001^*$, *signifikant, Tab. 25). Über den *post-hoc*-Test wurden signifikante Unterschiede zwischen den klonalen Proben aus Ecuador und allen anderen Herkünften festgestellt (Abb. 87).

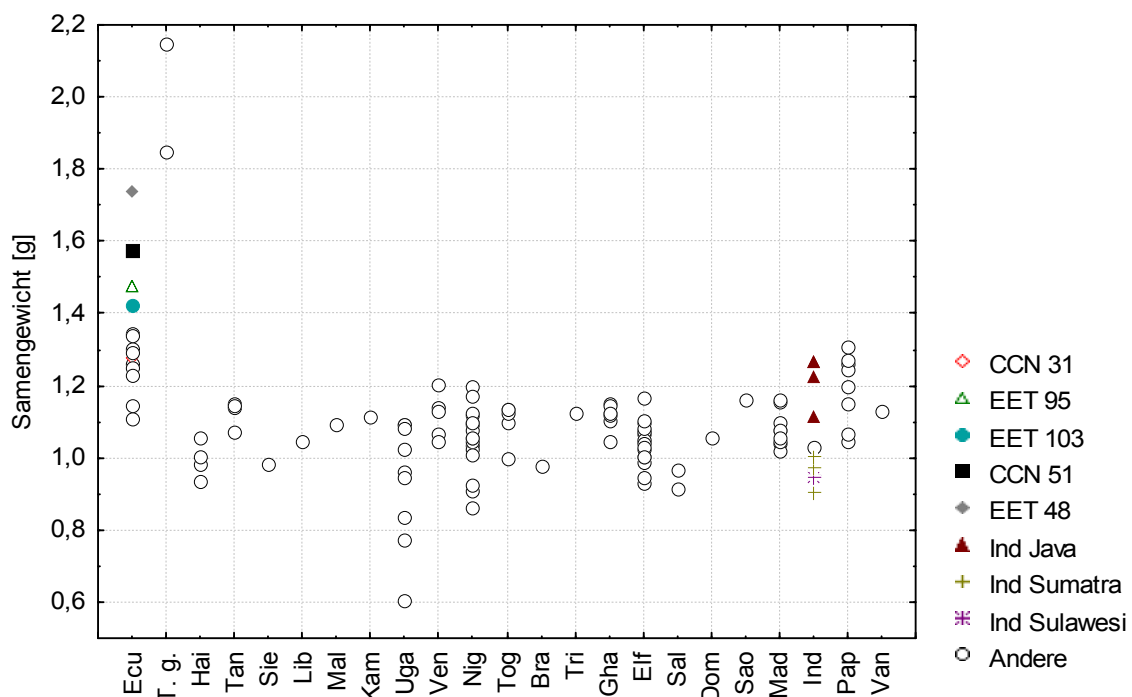


Abb. 86 Samengewicht der Rohkakaoproben
 Dargestellt ist das Samengewicht in g der Rohkakaoproben. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

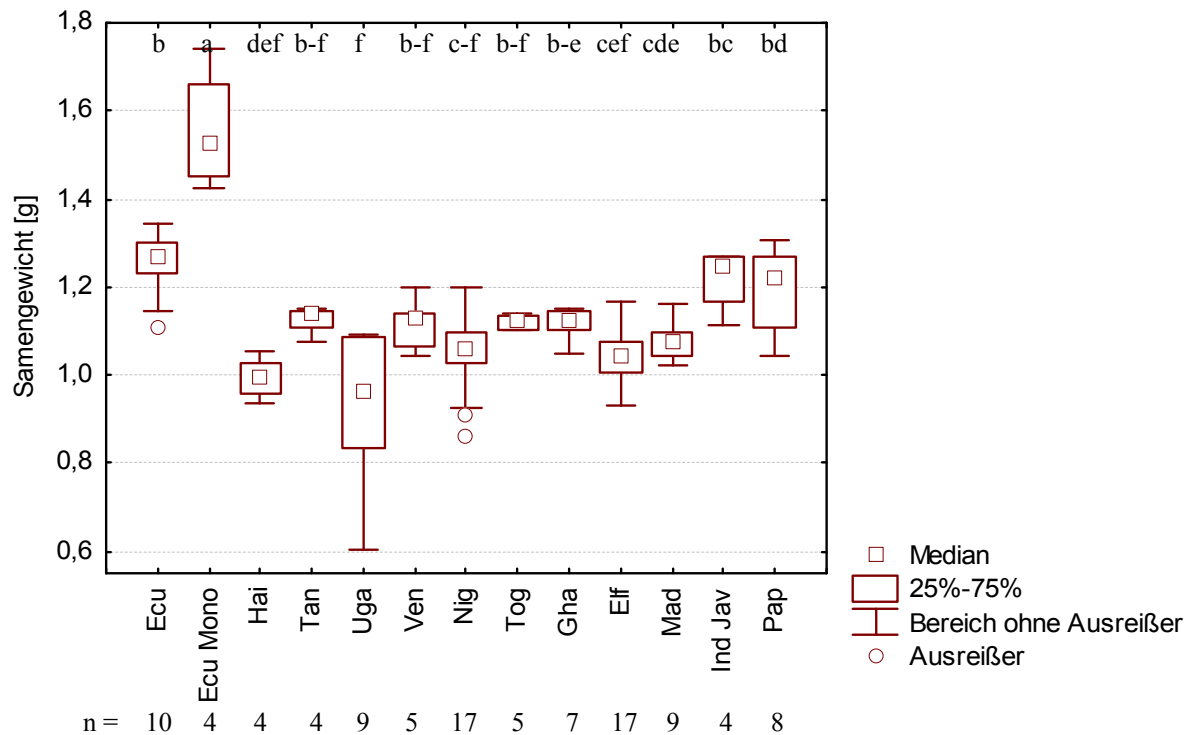


Abb. 87 Mittelwertvergleich: Samengewicht der Rohkakaoproben
 Darstellung der Mediane (□), der 25-75-Perzentile und der Ausreißer (°) für alle Herkünfte mit $n \geq 4$ unter Ausschluss der Probe Ecu 5 (CCN 31). Verschiedene Buchstaben am oberen Rand der Grafik repräsentieren signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Herkünfte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ (*post-hoc*-Test: LSD-Test nach ANOVA, $n = 4$; bei Herkünften mit $n > 4$ wurde n auf 4 zufällig ausgewählte Proben reduziert). Abkürzungen wie in Abb. 19 außer: Ecu Mono: Sammelbezeichnung für unter besonderen Bedingungen fermentierte Samen der Genotypen EET 48, EET 95, EET 103 und CCN 51 sowie Ind Jav: Region Java (Indonesien).

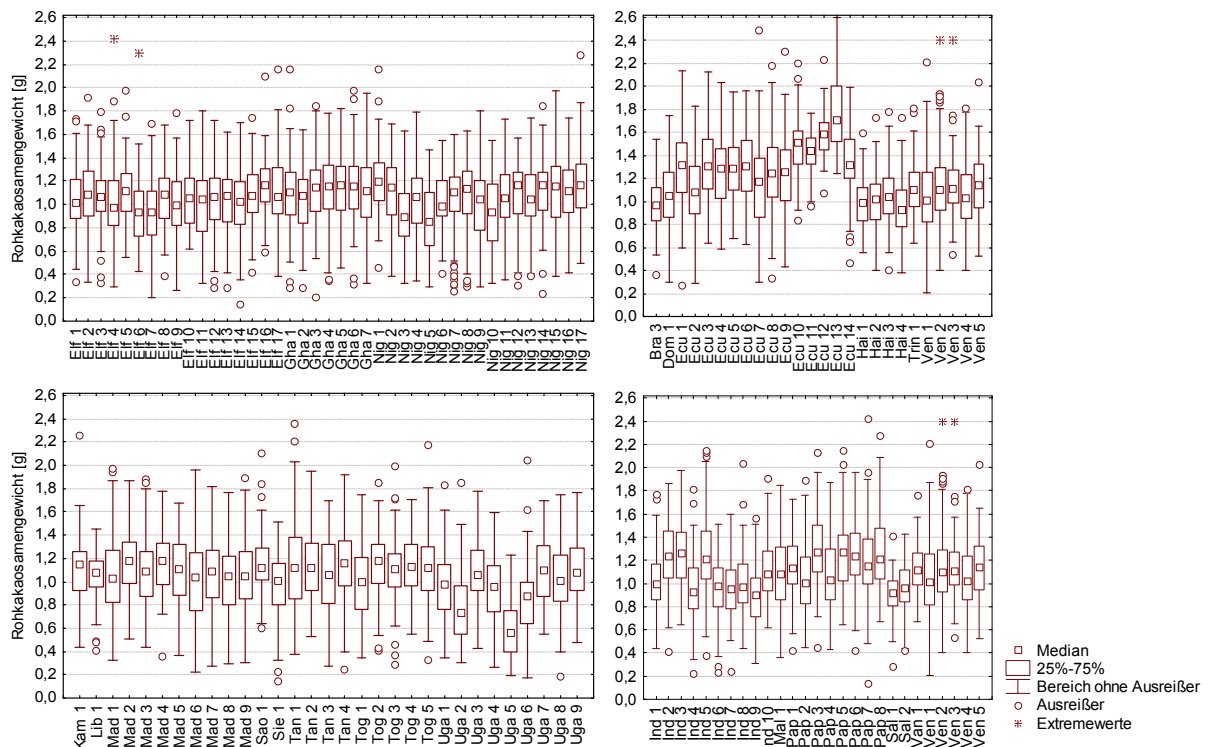


Abb. 88 Gewichtsverteilung von 100 Samen jeder Rohkakaoprobe
 Darstellung der Mediane (□) der Samengewichte in g, der 25-75-Perzentile, der Ausreißer (°) und Extremwerte (*) für alle 122 Proben (untersuchte Samenanzahl pro Probe $n = 100$).

4.1.7.2 Homogenität der Proben: das Samengewicht

Für die Analyse der Samengewichte standen pro Probe die Einzelgewichte von 100 Rohkakaosamen zu Verfügung.

Der Lilliefors-Test zeigte, dass die Samengewichte von 102 Proben mit einer Wahrscheinlichkeit von über 80% normalverteilt waren, bei 18 Proben lag die Wahrscheinlichkeit, dass die Samengewichte normalverteilt waren unter 5%. Es handelte sich um die Proben Pap 4, 7, 8; Ind 6, 5, 7, 8; Mad 2, Lib 1, Sao 1, Sie 1, Tog 3, Nig 2, 7, 8, 12, 13, 14 und Uga 2. Die Ergebnisse aller Proben sind in der Tab. 12 dargestellt. Die detaillierten Lilliefors-Ergebnisse sind in Tab. 28 im Anhang dargestellt.

Mit Hilfe des Lilliefors-Test kann zwar relativ genau geklärt werden, welche der Proben nicht normalverteilt sind; er gibt aber keine Information darüber, von welcher Art die Verteilung der Samengewichte jeder Probe ist. Daher wurden die Verteilungsmuster zusätzlich über grafische Darstellungen anhand von Häufigkeitsgruppen und Normalverteilungsplots untersucht.

Nach visueller Auswertung konnten die Verteilungsmuster der Proben in vier Gruppen unterteilt werden:

- A) modale Verteilung (u. a. Normalverteilung), d.h. die Grafik der Häufigkeitsverteilung entspricht in ihrer Form annähernd der einer gaußschen Normalverteilungskurve,
- B) rechts- oder linksschiefe Verteilung: d.h. die Form der Häufigkeitsverteilung ähnelt der einer gaußschen Verteilung, ist aber auf eine Seite beschränkt und endet entweder vor oder nach der Säule mit der höchsten Häufigkeit,
- C) Verteilung ohne deutliches Häufigkeitsmaxima einer der 17 Gewichtsklassen, mehrere Gruppen haben Anteile zwischen 9 und 15%,
- D) bimodale oder oligomodale Verteilung der Gewichtsgruppen, wobei die Maxima durch ein oder mehrer Gruppen voneinander getrennt sind.

Für jedes dieser vier Verteilungsmuster sind folgend die ihm zugeordneten Proben benannt sowie Beispiele für die beiden Grafikformen dargestellt (Tab. 12, Abb. 89-Abb. 92).

A) Modales Verteilungsmuster

Die meisten der Proben wurden diesem in der Regel symmetrischen Verteilungsmuster zugeordnet. In Tab. 12 sind diese Proben aufgelistet.

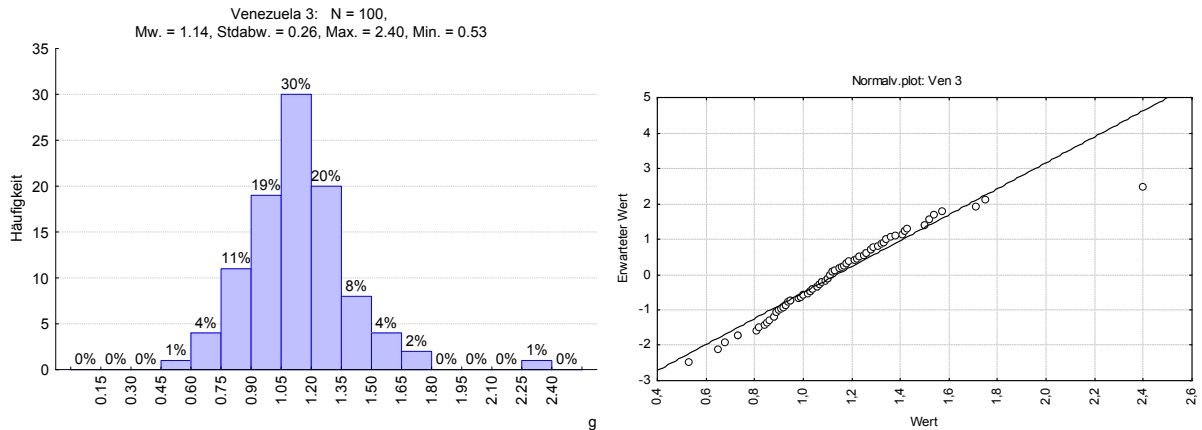


Abb. 89 Modale Verteilungsmuster der Gewichtsklassen und Samengewichte der Rohkakaosamengewichte am Beispiel der Probe Ven 3
 A und C: Häufigkeitsverteilung der Samengewichte. Die Samengewichte wurden in 17 Gewichtsklassen gruppiert (als Breite der Klassen wurde 0,15 g gewählt, beginnend mit der Gewichtsklasse 0-0,15 g, abschließend mit der Gewichtsklasse > 2,4g)
 B und D: Normalverteilungsplots : Abszisse „Wert“ = empirisch gemessene Samengewichte, Ordinate „Errechneter Wert“ = bei angenommener Normalverteilung errechneter Wert.

B) Rechtsschiefe und linksschiefe Verteilungsmuster

Sowohl rechtsschiefe als auch linksschiefe Verteilungen wurden beobachtet. Die Proben Ecu 13, Ind 1, Mad 1, Bug 13, Uga 2, 5 wurden der rechtsschiefen Verteilung, die Proben Hai 4, Ind 6, Mad 2, Nig 4, 12; Sal 1, Sie 1 dem linksschiefen Verteilungsmuster zugeordnet.

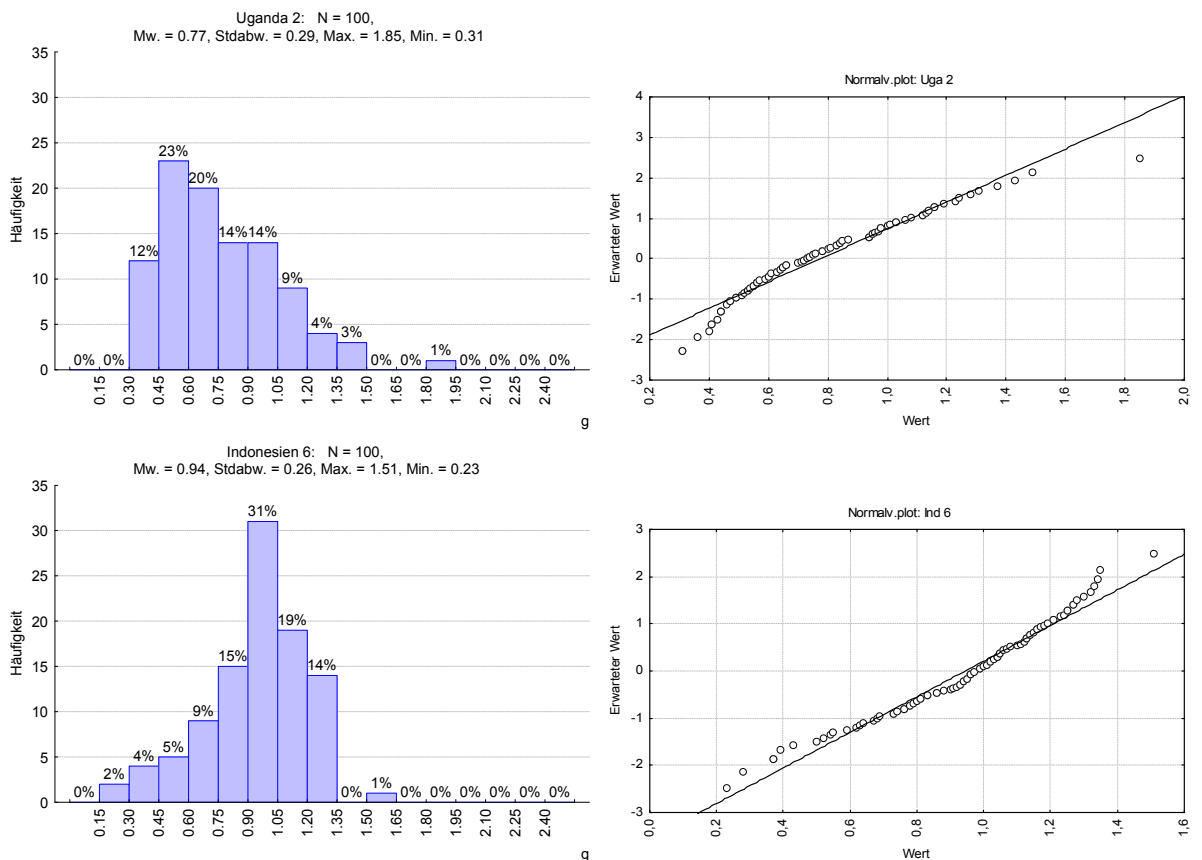


Abb. 90 Linksschiefes und rechtsschiefes Verteilungsmuster der Gewichtsklassen und Normalverteilungsplot der Rohkakaosamengewichte am Beispiel der Probe A) Uga 2 (linksschiefes Verteilungsmuster) und B) Ind 6 (rechtsschiefes Verteilungsmuster)

C) Verteilung ohne deutliche Häufigkeitsmaxima einer der Gruppen

Dieser Verteilung wurden die folgenden Proben zugeordnet: Ecu 1, 2, 4, 6, 7, 10; Elf 10, 14; Ind 3, 8; Mad 4-6; Nig 1, 5, 7, 10, 14-15; Tan 3; Tog 5; Uga 4, 7-8; und Ven 1-2, 4-5.

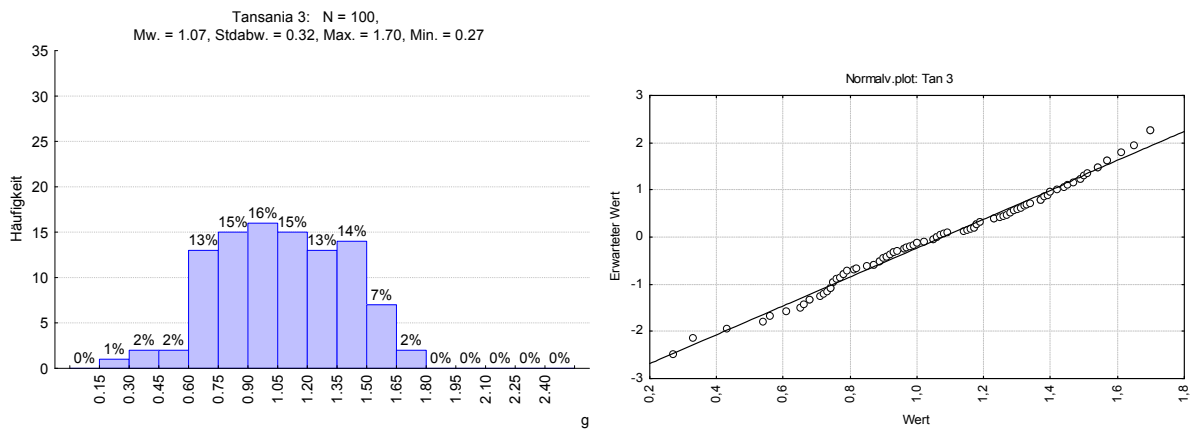


Abb. 91 Verteilungsmuster ohne ausgeprägte Häufigkeitsmaxima bestimmter Gewichtsklassen und Normalverteilungsplot der Rohkakaosamengewichte am Beispiel der Probe Tan 3

D) Bi- und oligomodale Verteilungsmuster

Eine Gewichtsklassenverteilung mit mehreren Maxima wurde in den Proben Bra 2; Elf 1, 2, 7; Hai 1; Ind 4, Kam 1; Pap1, 5; Tan 1, 4 und Tog 2 festgestellt.

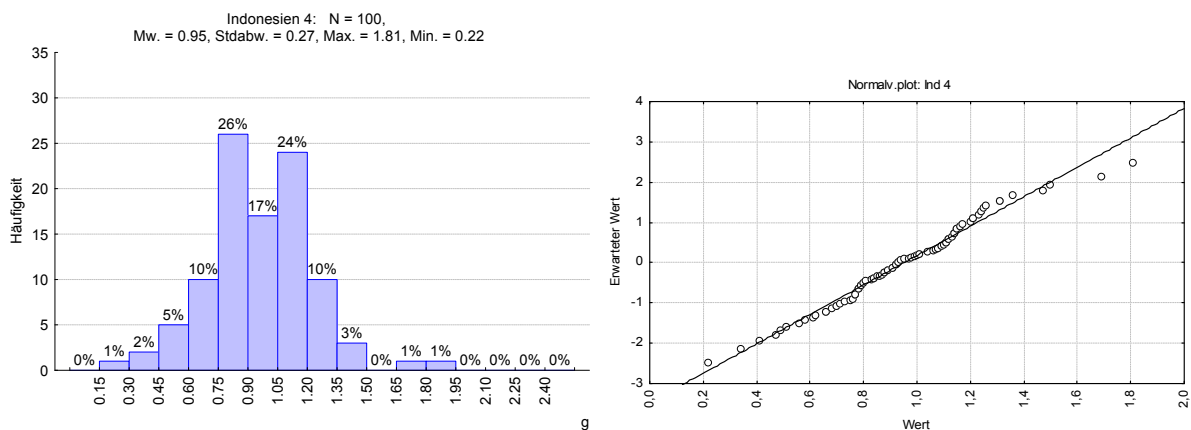


Abb. 92 Mehrgipfelige Verteilungsmuster der Gewichtsklassen und Normalverteilungsplot der Rohkakaosamengewichte am Beispiel der Probe Ind 4

Tab. 12 Einordnung der Rohkakaoproben entsprechend ihrer Verteilungsmuster der Rohkakaosamen-Gewichtsgruppen
Fett und mit einem * gekennzeichnete Zahlen sind nach dem Lilliefors-Test nicht normalverteilt.

Herkunft	modal	linksschief	rechtsschief	ohne Maxima	bimodal
Brasilien	3			1	2
Dom. Republik				1	
Ecuador	3, 5, 8, 9, 11, 12, 14		13	1, 2, 4, 6, 7, 10	
Elfenbeinküste	3-6, 8-9, 11-13, 15-17			10, 14,	1, 2, 7
Ghana	1-5, 7			6	
Haiti	2, 3	4			1
Indonesien	2, 5*, 7, 9, 10,	6*	1	3, 8*	4
Kamerun					1
Liberia	1*				
Madagaskar	3, 7-9	2*	1	4, 5, 6,	
Malaysia				1	
Nigeria	2*, 3,6, 8*, 11, 16, 17	4, 12*	13*	1, 5, 7*, 10, 14*-15	
Papua-Neuguinea	2, 3, 4, 6, 7*, 8*				1, 5
Salomonen	2	1*			
São Tomé	1				
Sierra Leone	2	1*			
Tansania	2			3	1, 4
Togo	2, 3*, 4			5	1
Trinidad	1				
Uganda	1, 3, 6, 9		2*, 5	4, 7, 8	
Vanuatu	1				
Venezuela	3			1, 2, 4, 5	

4.1.7.3 Gewichtsanteile von Kotyledonen, Radikula und Testa (mit Pulparesten)

Bezogen auf das Gewicht bestanden die untersuchten Rohkakaosamen im Mittel aus 86% Kotyledonen-, 13% Testa- (mit Pulparesten) und 0,8% Radikulaanteil (Tab. 13, Abb. 93, Abb. 95, Abb. 97).

Mit 0,51 g, 0,61 g und 0,72 g wiesen die Proben Uga 5, 2 und Nig 5 die niedrigsten Kotyledonengewichte auf (Abb. 94, Tab. 24 im Anhang). Die höchsten Kotyledonengewichte, nämlich 1,3-1,5 g, wurden in den Proben Ecu 10-13 (entspricht den Genotypen EET 95, EET 103, CCN 51, EET 48) gemessen.

Die niedrigsten Gewichte der Testae (mit Pulparesten) wiesen die Proben Lib 1, Uga 5, Hai 4 und Nig 5 mit 0,11 g auf (Abb. 96, Tab. 24 im Anhang). Die höchsten Gewichte wiesen die Proben Pap 6, 8, 7, 5, 3 aus Papua-Neuguinea und die Probe Ind 2 aus Java mit Gewichten zwischen 0,18 g und 0,20 g auf. Die höchsten Testaanteile von 16,3% bis 16,6% wurde für die Proben Nig 3, Mad 7, Uga 5, Sal 2, und Pap 4 errechnet, die Proben mit den niedrigsten Testaanteilen sind die Proben Ecu 10-13 und Lib 1 (Abb. 95).

Die Gewichtsanteile der Radikula lagen bis auf eine Ausnahmen der Probe Nig 5 unter 1 %, die Gewichte der Radikula lagen im Mittel bei 0,01 mg (Abb. 97, Abb. 98).

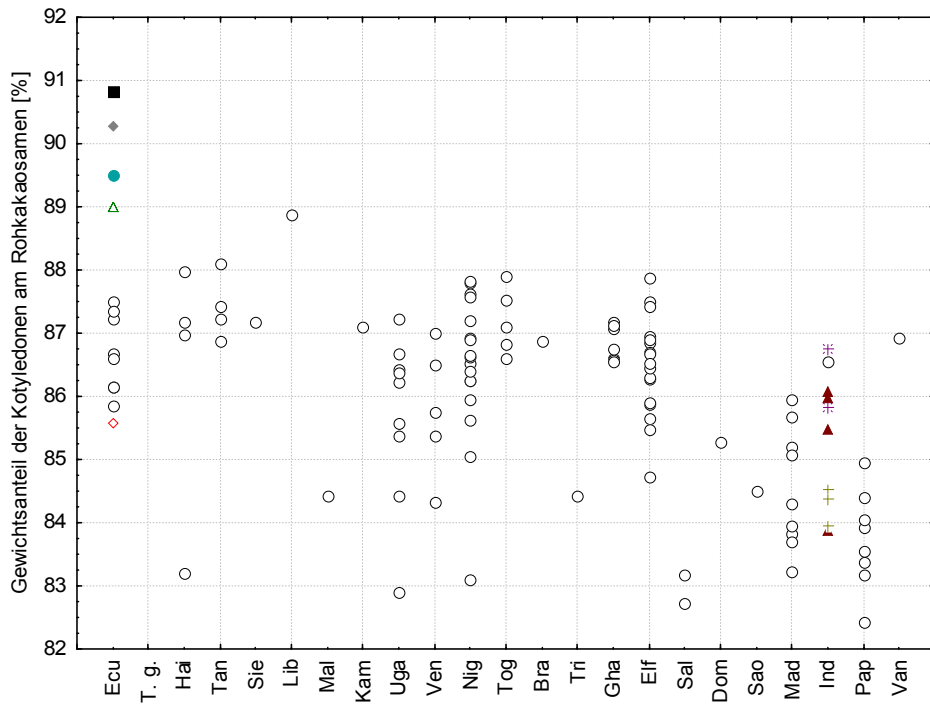


Abb. 93 Gewichtsanteil [%] der Kotledeonen am Rohkakaosamen
 Dargestellt sind die Mittelwerte von n = 100 Rohkakaosamen pro Probe. Symbole siehe Abb. 86.

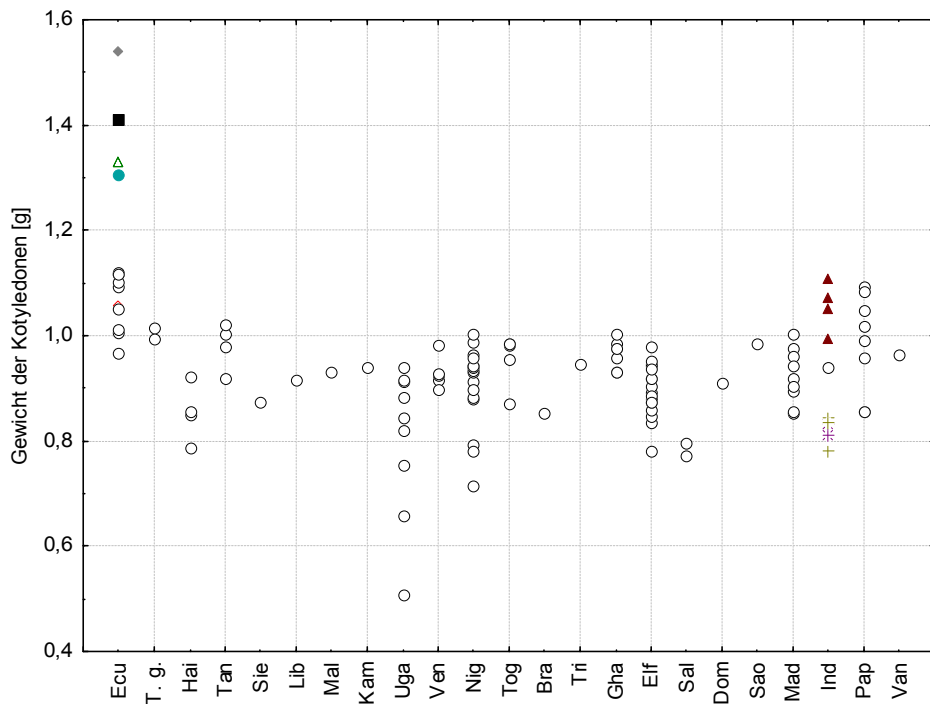


Abb. 94 Gewicht [g] der Kotledeonen
 Dargestellt sind die Mittelwerte von n = 100 Rohkakaosamen pro Probe. Symbole siehe Abb. 86.

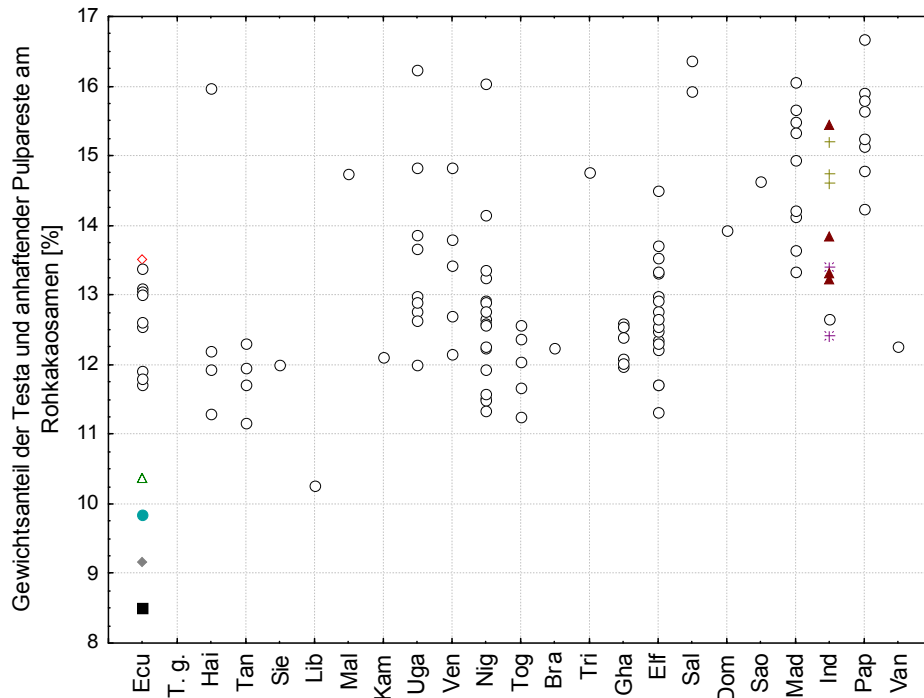


Abb. 95 Gewichtsanteil [%] Testa und anhaftender Pulpareste am Rohkakaosamen
 Dargestellt sind die Mittelwerte von n = 100 Rohkakaosamen pro Probe. Symbole siehe Abb. 86.

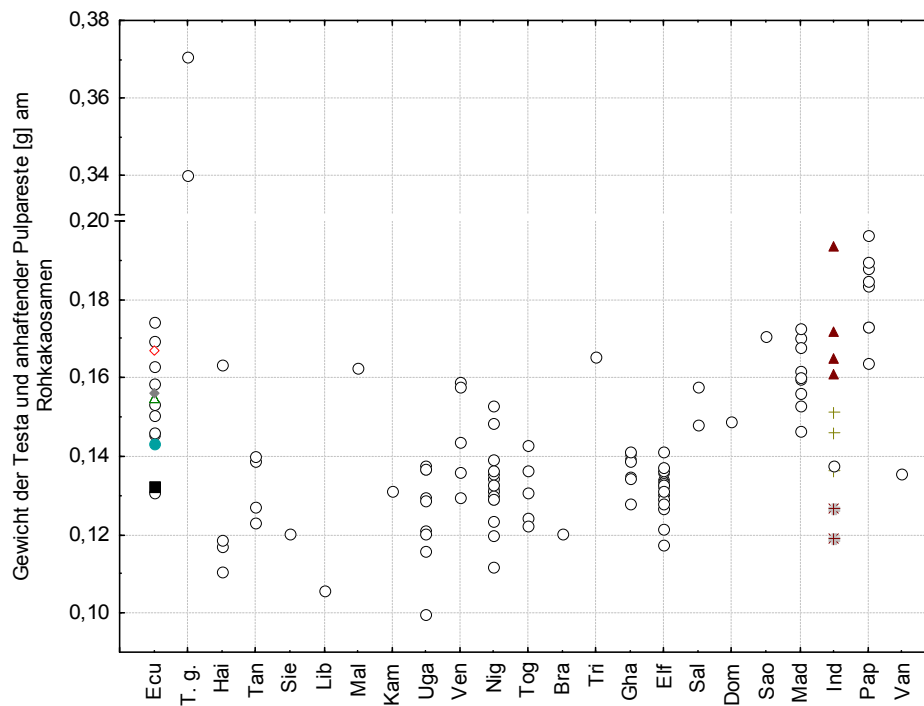


Abb. 96 Gewicht [g] Testa und anhaftender Pulpareste am Rohkakaosamen
 Dargestellt sind die Mittelwerte von n = 100 Rohkakaosamen pro Probe. Symbole siehe Abb. 86.

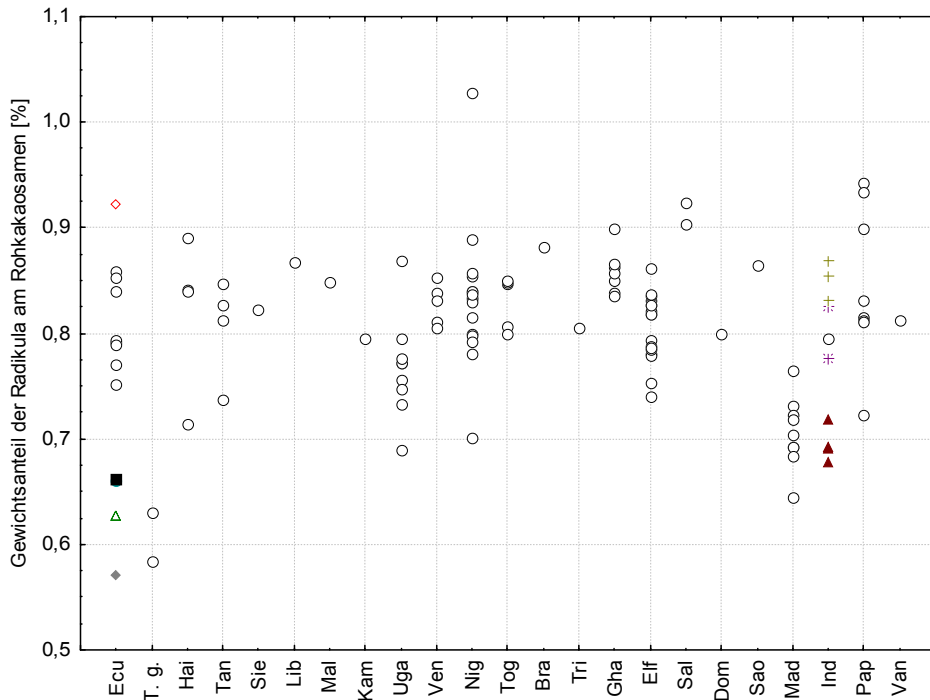


Abb. 97 Gewichtsanteil [%] Radikula am Rohkakaosamen
 Dargestellt sind die Mittelwerte von n = 100 Rohkakaosamen pro Probe. Symbole siehe Abb. 86.

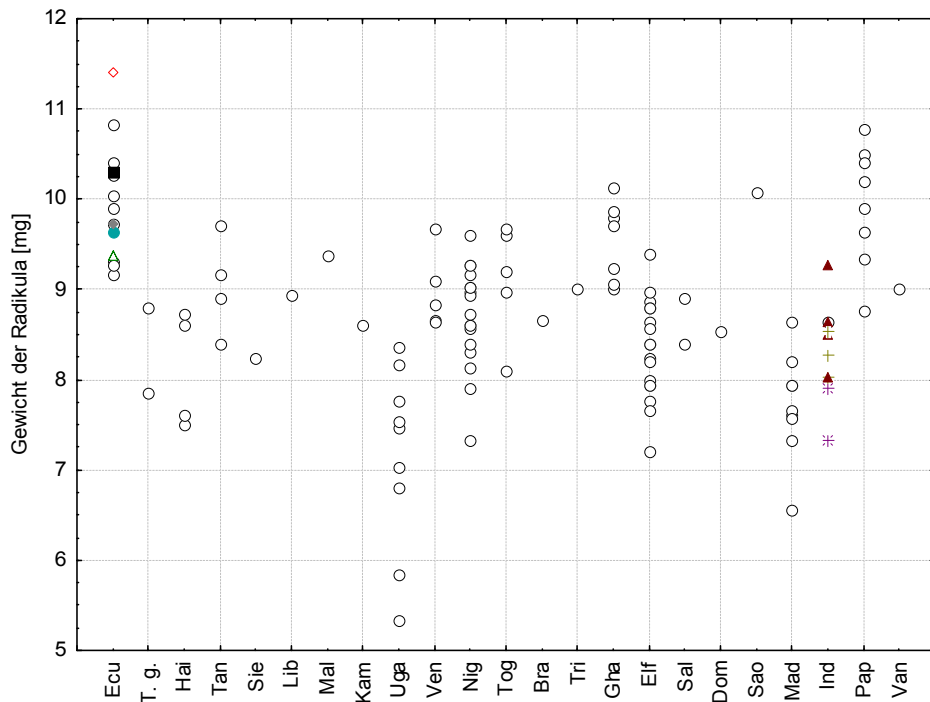


Abb. 98 Gewicht [mg] der Radikula
 Dargestellt sind die Mittelwerte von n = 100 Rohkakaosamen pro Probe. Symbole siehe Abb. 86.

Tab. 13 Mittelwerte und Spannweiten von Gewichtsanteil [%] und Gewicht [g und mg] von Kotyledonen, Radikula und Testa mit anhaftender Pulpareste bei Rohkakaosamen
n = 120

	Mittelwert	Median	Minimum	Maximum	Stabw.
Bohnenanzahl/100g	94,50	94,33	58,33	188,0	13,87
Radikula [mg]	8,7	8,7	5,33	11,4	0,98
Testa + Pulpa [g]	0,14	0,14	0,099	0,197	0,02
Kotyledonen [g]	0,94	0,93	0,50	1,53	0,12
Radikula [%]	0,80	0,81	0,57	1,0	0,07
Testa+Pulpa [%]	13,12	12,77	8,50	16,7	1,55
Kotyledonen [%]	86,08	86,41	82,42	90,8	1,56

Das Gewicht der Radikula und das der Testa (mit anhaftendem Pulparest) waren positiv mit dem Samengewicht korreliert ($r = 0,67$; $r = 0,44$). Dabei zeigte sich, dass alle Ecuadorproben, bei gleichem Testagewicht wie z. B. Proben aus Madagaskar, Venezuela und Java im Verhältnis größere Samengewichte aufwiesen (nicht dargestellt). Dies gilt insbesondere für die unter speziellen Bedingungen fermentierten Proben Ecu 5 und Ecu 10-13.

Der Anteil von Testa und anhaftenden Pulparesten am Rohkakaosamen nahm mit steigendem Samengewicht leicht ab. Dieser Zusammenhang galt vor allem für die Gruppe der Herkunftsländer, die Edelkakao anbauen (Ecuador, Venezuela, Papua-Neuguinea und Madagaskar) ($r = -0,64$). Betrachtet man die Proben der westafrikanischen Herkunft getrennt von den letztgenannten, so ergab sich ein weniger deutlicher Zusammenhang ($r = -0,54$, bzw. $r = -0,42$).

4.1.7.4 Anteile der Fermentationsstadien *schiefbrig*, *violett* und *braun*

Im Folgenden werden die Ergebnisse des Schnitt-Testes dargestellt und dahingehend überprüft, ob es, bezogen auf die Herkunft der Proben, typische Verteilungsmuster von *schiefrigen*, *violetten* und *braunen* Rohkakaosamen gibt.

71,6% der Proben wurden als „good fermented“ eingestuft, 18,3% als „fair fermented“. 10% der Proben enthielten mehr als die nach CAL und ALFC festgelegten Anteile an schimmlichen, *schiefrigen* oder insektenbefallenen Rohkakaosamen (siehe Tabelle Tab. 24 im Anhang). Die letztgenannten Proben gelten im Handel als minderwertige Ware und werden mit Preisnachlässen gehandelt. Zu diesen zählten die Proben Ecu 9, Hai 1, 3, 4, Sie 1, Nig 6, 9, Ind 1, 4, Lib 1, Uga 8, 9. Beispielhaft sind in Abb. 99 die Schnittbilder von einigen typisch ausgefärbten *schiefrigen*, *violetten* und *braunen* Fermentationsstadien unterschiedlicher Proben dargestellt. Die Schnittbilder aller Proben sind hier nicht dargestellt, sondern finden sich im Cocoa Atlas 2002 (LIEBEREI & ROHSIUS, 2002).

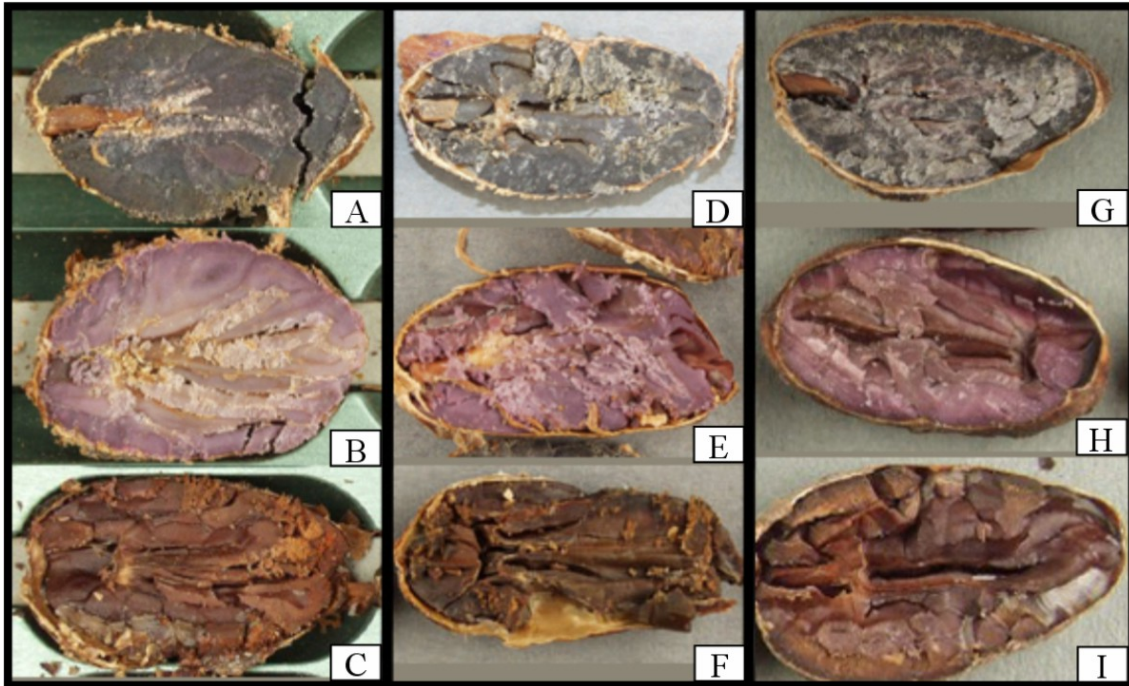


Abb. 99 Typische Beispiele der Fermentationsstadien *schiefzig*, *violett* und *braun* unterschiedlicher Rohkakaoproben
 A) *schiefzig*, B) *violett*, C) *braun* einer Ecuadorprobe; D) *schiefzig*, E) *violett*, F) *braun* der Trinidadprobe; G) *schiefzig*, H) *violett*, I) *braun* einer Haitiprobe

Anteil an *schiefrigen* und *violetten* Samen

Die Hälfte aller Proben wiesen mehr als 10% *schiefrige* oder *violette* Rohkakaosamen auf (Abb. 100, Abb. 101, Abb. 102). Jedoch wiesen die Proben der Herkünfte Papua-Neuguinea, Vanuatu, Java, São Tomé, Dominikanische Republik, Trinidad, Salomonen, Malaysia und Brasilien keine *schiefrigen* Rohkakaosamen auf. Viele dieser Proben wiesen gleichzeitig hohe Anzahlen an *weißen* und *hellbrechenden* Samen auf.

Nur in einer Probe (Pap 8) wurden weder *schiefrige* noch *violette* Rohkakaosamen gefunden; alle anderen Proben zeigten unterschiedliche Anteile an *schiefrigen* oder *violetten* Rohkakaosamen.

Von den afrikanischen Herkünften wiesen die Proben von der Elfenbeinküste und aus Sierra Leone mit 11% und 13% die niedrigsten Anteile an *schiefrigen* und *violetten* Rohkakaosamen auf.

Die höchsten Anteile an *schiefrigen* und *violetten* Rohkakaosamen wurden in den Proben Ecuador 13, Hai 1 und Ind 4 (Sulawesi) mit 46%, 37% und 12% gezählt, etwas geringere Anteile wiesen die Proben Ecu 6-9, Ecu 11 sowie Tan 2, 3 Tog 2 und Mad 3 auf.

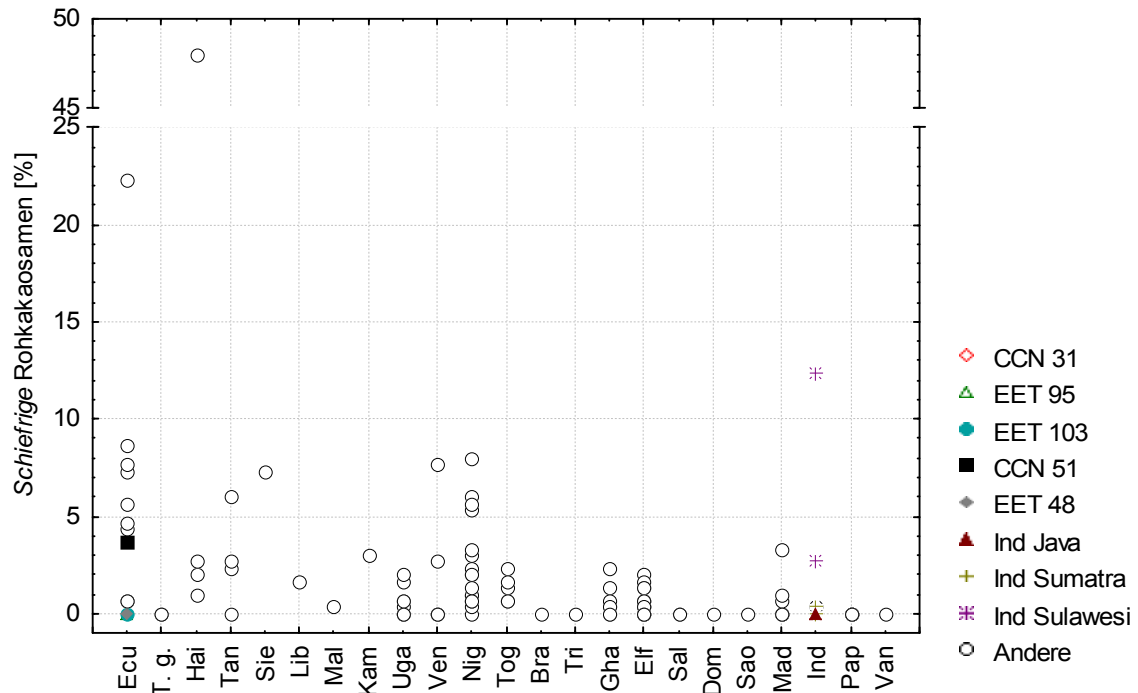


Abb. 100 Anteil an *schiefriigen* Rohkakaosamen
 Dargestellt sind die Anteile der Rohkakaosamen pro Probe in %, sortiert nach Herkunft. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

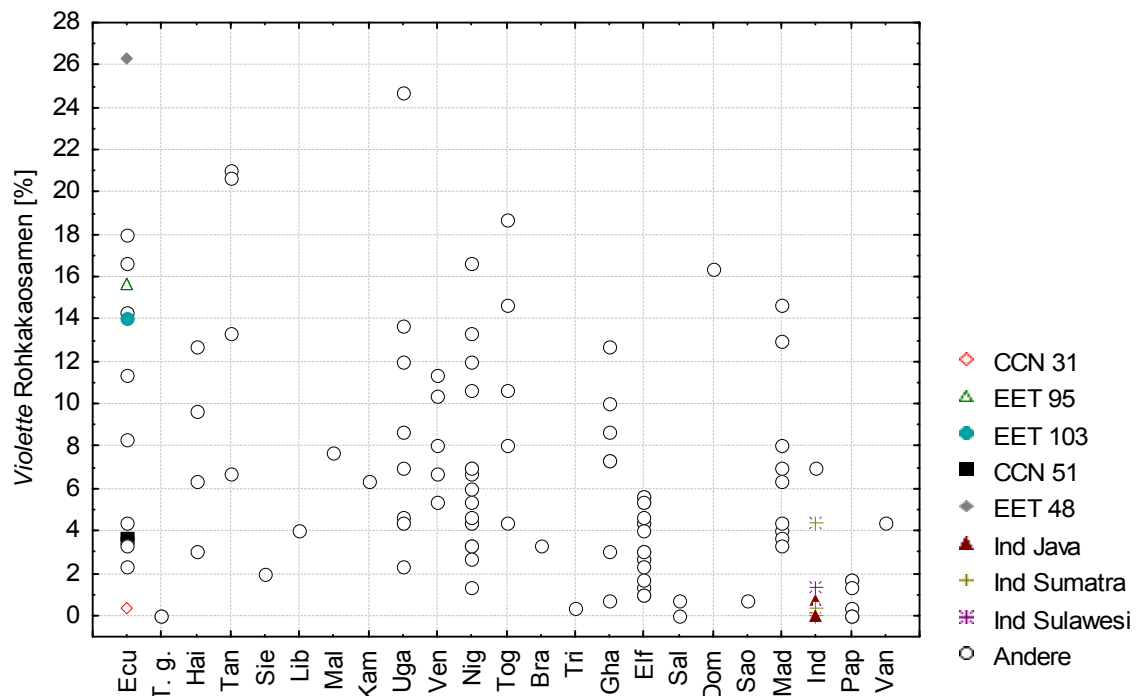


Abb. 101 Anteil an *violetten* Rohkakaosamen
 Dargestellt sind die Anteile der Rohkakaosamen pro Probe in %, sortiert nach Herkunft. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

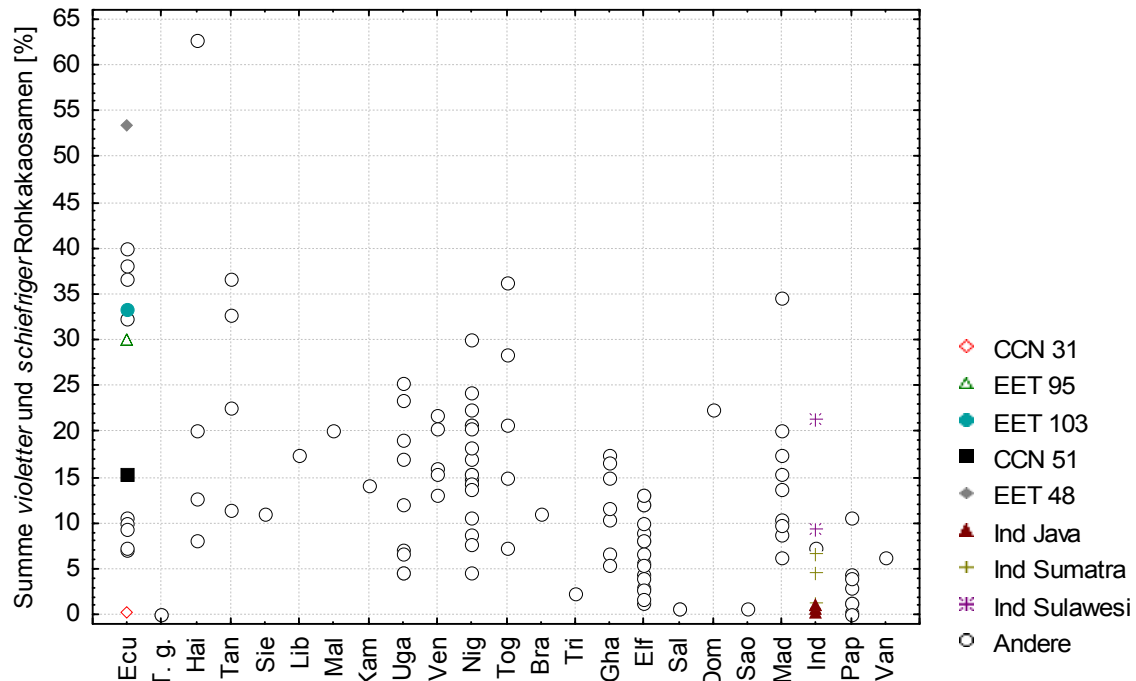


Abb. 102 Summe aus *violetten* und *schiefrigen* Rohkakaosamen
 Dargestellt sind die Summen aus *violetten* und *schiefrigen* Rohkakaosamenanteilen pro Probe in %, sortiert nach Herkunft. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

Anteil an hellbrechenden und hellbraunen Samen

Hellbrechende und *hellbraune* Samen wurden in fast allen Proben nachgewiesen, die höchsten Anteile mit nahezu 100% enthielten die *T. grandiflorum*-Proben gefolgt von den Javaproben Ind 5, 10, 2 und 3 mit jeweils 78%, 76%, 76% und 62% (Abb. 103, Einzelwerte in Tab. 19 im Anhang). Mit Anteilen zwischen 20% und 40% wiesen auch Proben aus Malaysia (Mal 1), Sumatra (Ind 7-9), Madagaskar (Mad 4-8), Papua-Neuguinea (Pap 1; 4-8) und Brasilien (Bra 3) relativ hohe Werte auf. Diese Proben machten etwa ein Drittel aller Proben aus. Die meisten afrikanischen Proben (außer Proben aus Madagaskar) sowie Proben aus Sulawesi, Haiti und Ecuador enthielten weniger als 10% *hellbrechende* und *hellbraune* Samen.

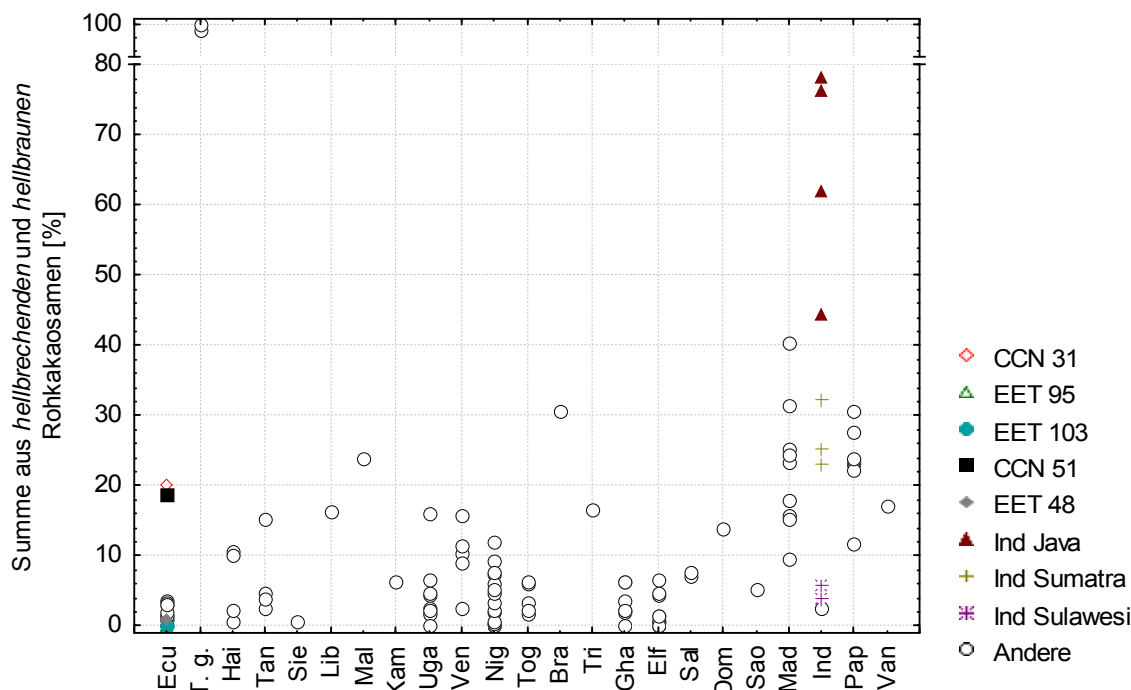


Abb. 103 Summe aus *hellbrechenden* und *hellbraunen* Rohkakaosamen
 Dargestellt sind die Summen aus *hellbrechenden* und *hellbraunen* Rohkakaosamenanteilen pro Probe in %, sortiert nach Herkunft. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

Anteil an braunen Samen

Die Summe aller *braunen*, also in der Regel fermentierte Rohkakaosamen (errechnet aus der Summe aus *braunen*, *hellbrechenden* und *hellbraunen* Samen) ergibt in allen Proben einen hohen Anteil (Abb. 104). Von allen afrikanischen Proben wiesen Proben der Elfenbeinküste die höchsten Anteile an *braunen* Rohkakaosamen auf. Weiterhin enthielten die Proben der Edelkakao produzierenden Herkünfte Java, Sumatra und Papua-Neuguinea mit über 90% sehr hohe Anteile an fermentierten Samen.

Proben aus Tansania, Ecuador, Haiti und einige Proben aus Togo enthielten, entsprechend ihrer hohen Anteile an *schiefrigen* und *violetten* Rohkakaosamen, weit geringere Anteile an fermentierten Samen.

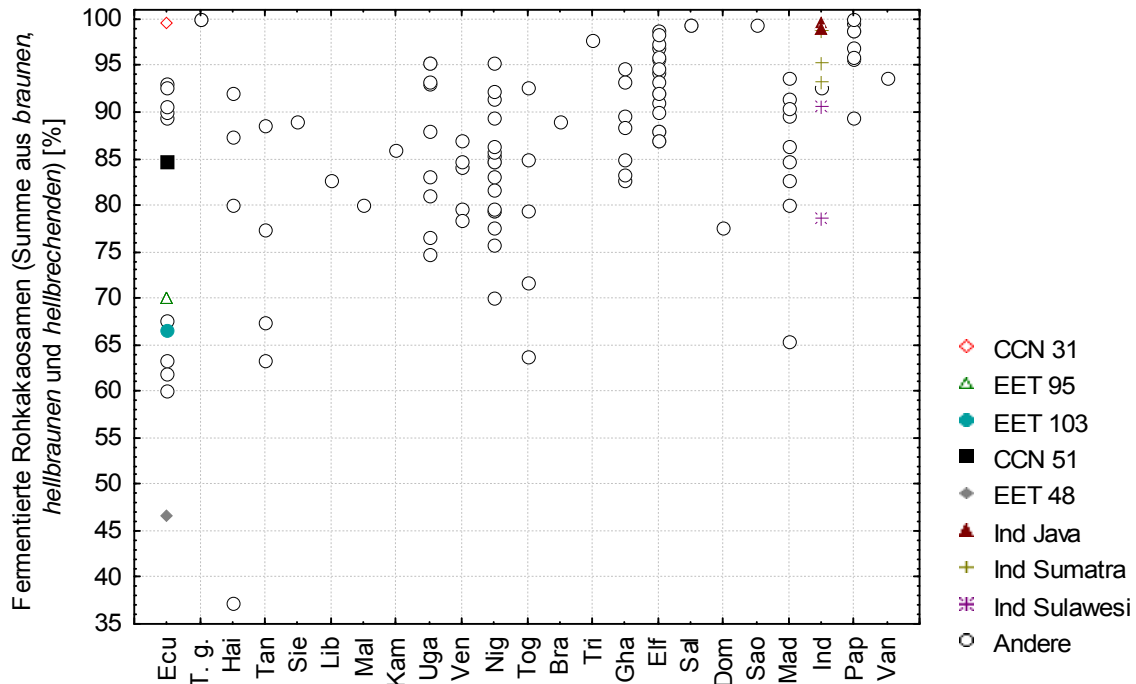


Abb. 104 Summe aus *braunen*, *hellbrechenden* und *hellbraunen* (entspricht fermentierten) Rohkakaosamen
 Dargestellt sind die Summenanteile aus *braunen*, *hellbrechenden* und *hellbraunen* Rohkakaosamen pro Probe in %, sortiert nach Herkunft. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

Besonderheit der Fermentationsstadien mit mehreren Farbzonen

Während der Durchführung des Schnitt-Testes und bei der genauen Betrachtung der Fotos der Schnitt-Bilder fiel auf, dass sich die typischerweise neben den „normalen“ Fermentationsstadien *schiefbrig*, *violett* und *braun* vorkommenden Zwischenstadien durch eine Besonderheit auszeichneten. Bei allen Rohkakaosamen, die *schiefbrig-violette*, *violett-braune* oder, seltener gefunden, *schiefbrig-braune* Töne aufwiesen, gab es eine innere Farbzone und eine äußere Farbzone (Abb. 105). In unterschiedlichen Schnitt-Sequenzen war deutlich zu erkennen, dass die innere Farbzone nur im Bereich der Radikula mit der Testa in Kontakt tritt und ansonsten durch einen äußeren, anders gefärbten Bereich von der Testa weiter getrennt ist (Abb. 105). Bei den Proben, deren innerer Farbbereich mit der Testa an einer anderen Stelle in Kontakt trat, wies die Testa genau in dem Bereich Läsionen auf.

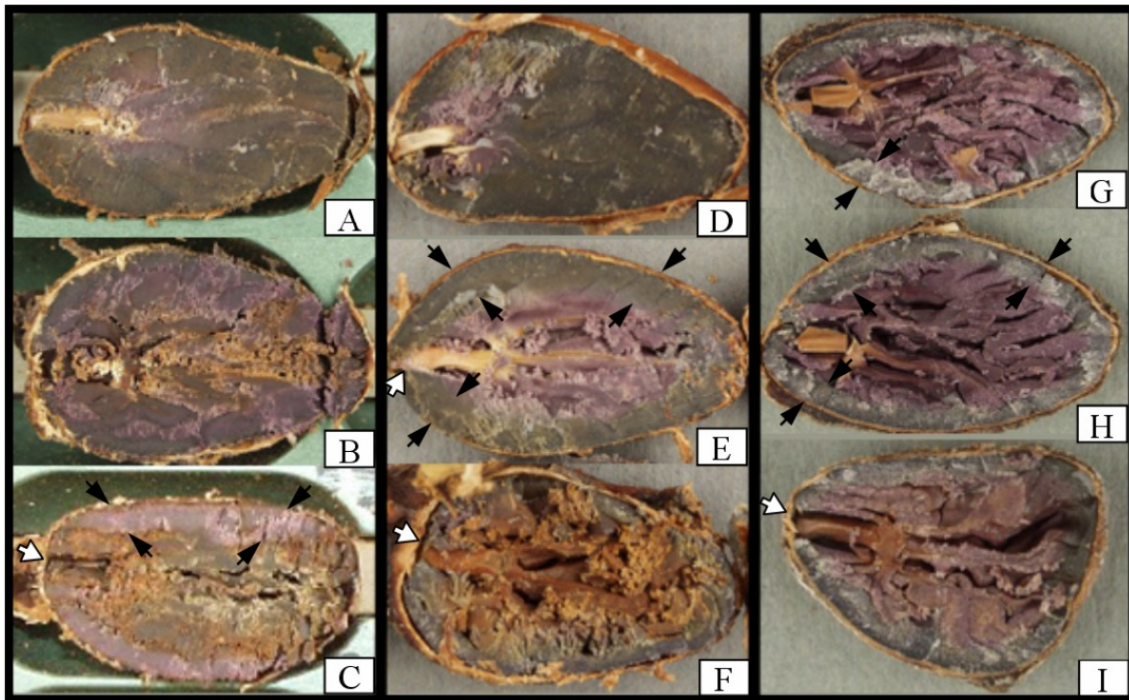


Abb. 105 Besonderheit der Fermentationsstadien *schiefbrig-violett*, *schiefbrig-braun* und *violett-braun* aus unterschiedlichen Herkünften
 Zwischenstadium *schiefbrig-violett* von Proben aus A), B) Ecuador, D), E) Trinidad und Tobago und G) H) I) Haiti; Zwischenstadium *violett-braun* von einer Probe aus C) Ekuador; Zwischenstadium *schiefbrig-braun* von einer Probe aus F) Trinidad und Tobago. Die schwarzen Pfeile zeigen an, dass der äußere Bereich der Kotyledonen eine andere Farbe aufweist als der innere Teil der Kotyledonen, die weißen Pfeile deuten auf den einzigen gefundenen Bereich in der Nähe der Radikula, in dem die schiefrige bzw. violette Farbe bis an die Testa heranreicht.

Schimmelbefallene Rohkakaosamen

Bei 80 der 120 untersuchten Rohkakaoproben lag der Anteil von Schimmelbefall bei bis zu 3% (Abb. 106). Von diesen Proben waren 15 ohne Schimmelbefall, bei 36 Proben lag der Anteil schimmelbefallener Samen zwischen 0,33 und 1%. In 20 Proben lag der Anteil mit Schimmelbefall zwischen 3 und 5%. Anteile größer 5% bis zu einem Höchstwert von 35% enthielten die 22 Proben Uga 2, 3, 7-9, Nig 2, 5-6, 8-12, 15, Hai 2-4, Elf 6, Ind 1, Sie 1, Lib 1, Kam 1 und Ven 2 und 4.

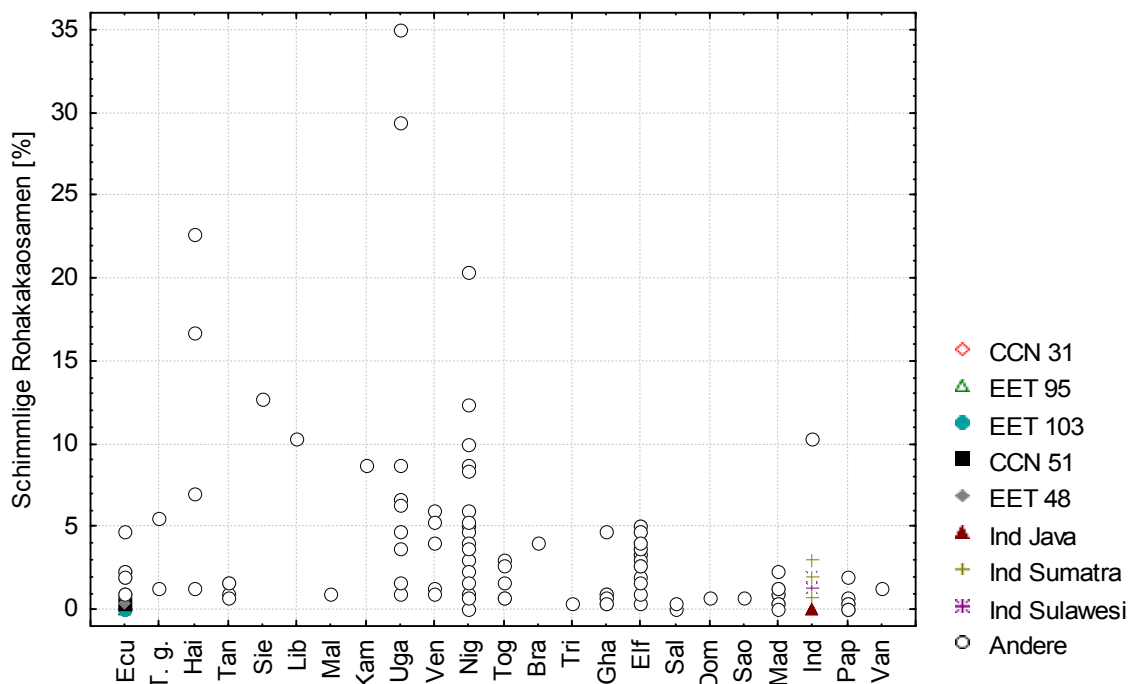


Abb. 106 Anteil schimmlicher Rohkakaosamen
 Dargestellt sind die Anteile der mit Schimmel befallenen Rohkakaosamen pro Probe in %, sortiert nach Herkunft. Proben, bei denen die Information über den Genotyp bekannt war (Ecu 5, 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48) und Proben, deren genaue Herkunftsregion innerhalb eines Landes bekannt war (Java, Sumatra und Sulawesi aus Indonesien) wurden gesondert gekennzeichnet (Symbole siehe Grafik) alle anderen Proben wurden mit dem Symbol ° dargestellt.

Insektenbefallene Rohkakaosamen

Die Proben zeigten im Allgemeinen einen geringen Befall mit Insekten oder anderen Schädlingen, einzig bei der Probe Nig 2 lag der Befall bei über 6%. In allen anderen Proben lag der gewichtsbezogene Anteil an Rohkakaosamen mit Insekten- oder Insektenkotfraß bei unter 4%. In 101 von 120 Proben wurde kein Schädlingsbefall festgestellt (Daten nicht dargestellt).

Gekeimte Rohkakaosamen

Der Anteil an gekeimten Rohkakaosamen war mit bis zu 2% sehr gering. Eine Ausnahme bildet lediglich die Probe CCN 31 mit 4,7% (Daten nicht dargestellt).

Doppelte Rohkakaosamen

Bei etwa zwei Drittel der Proben machte der Anteil an Rohkakaosamen, die miteinander verklebt waren, unter 1% aus, das andere Drittel wies Werte bis maximal 5% auf. Zu den letztgenannten Proben zählen Proben der Elfenbeinküste, Nigeria, Madagaskar, Venezuela, Kamerun und Sierra Leone (Daten nicht dargestellt).

4.1.8 Bivariate und multivariate Zusammenhänge zwischen den Variablen

4.1.8.1 Bivariate Zusammenhänge zwischen den Variablen

Die untersuchten Variablen (Kap 4.1.2 bis 4.1.7) werden unterschiedlich stark durch Faktoren wie z.B. die genetische Herkunft, das Klima, die Art und Weise der Fermentation und Trocknung, die Bedingungen während der Reifung sowie durch den Zeitpunkt der Ernte beeinflusst. Abgesehen von der Herkunft der Probe, sind bei Warenproben in der Regel keine oder nur wenige spezifische Informationen über diese Faktoren verfügbar. Aussagen dazu, inwieweit solche Faktoren die untersuchten Variablen beeinflusst haben könnten, sind also post hoc anhand der hier vorliegenden Handelsproben nicht bzw. nur eingeschränkt unter bestimmten Annahmen möglich. Zu diesen Annahmen zählen die allgemeinen Kenntnissen über bestimmte Herkünfte, wie sie in Kapitel 2 beschrieben wurden, z.B. Auskunft über landesübliche Fermentationsweisen, vorherrschend angebaute Genotypen bzw. Informationen über die generell zu erwartende Qualität einer Rohkakaopartie.

Es ist jedoch davon auszugehen, dass einige der Variablen durch bestimmte Faktoren, insbesondere durch die Prozessierungsschritte Fermentation und Trocknung, gleichermaßen beeinflusst werden. Solche Variablen stünden also in einer bestimmten Beziehung zueinander. Um die Art der Zusammenhänge zwischen den Variablen zu untersuchen, wurden die Korrelationskoeffizienten zwischen den Variablen berechnet und die gemeinsame Variation anhand von bivariaten Verteilungen grafisch dargestellt und ausgewertet.

Die Zusammenhänge zwischen den Variablen innerhalb der einzelnen Kapitel (Säurewerte, Variablen der phenolischen Substanzen, Methylxanthine, FAA-Werte und Fett-Werte) wurden bereits in den Kapiteln 4.1.2 bis 4.1.7 beschrieben.

In den meisten anderen Fällen wurden keine oder nur sehr schwache Zusammenhänge zwischen den Variablen mit Bestimmtheitsmaß von $r^2 < 0,49$ festgestellt (bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,01$ und ohne Berücksichtigung von voneinander abhängigen Variablen wie z. B. den Anteilen *schiefziger*, *violetter* und *brauner* des Schnitt-Testes). Eine Ausnahme bilden die folgend dargestellten Zusammenhänge mit höheren Korrelationskoeffizienten von $r^2 \geq 0,49$ oder $r > |0,70|$. Die vollständige Korrelationsmatrix (r und r^2) aller untersuchten Variablen befindet sich im Anhang (Tab. 26, Tab. 27).

Zwischen dem Anteil an *braunen* Fermentationsstadien (inklusive aller *hellbrechenden* Stadien) und dem Epicatechingehalt der Proben wurde ein negativer Zusammenhang festgestellt ($r = -0,72$, Abb. 107; $r^2 = 0,52$); je mehr *schiefrige* und *violette* Samen eine Probe enthielt, desto höher war der Epicatechingehalt.

Zwischen dem Anteil der *braunen* Stadien und den anderen Variablen der phenolischen Substanzen, dem Theobromingehalt und den FAA-Variablen Asparaginsäure, Serin, Arginin,

Tyrosin, Valin, Phenylalanin, Isoleucin, Leucin und dem FAA-Gesamtgehalt bestanden weniger deutliche Zusammenhänge (siehe Anhang Tab. 27 und Tab. 26).

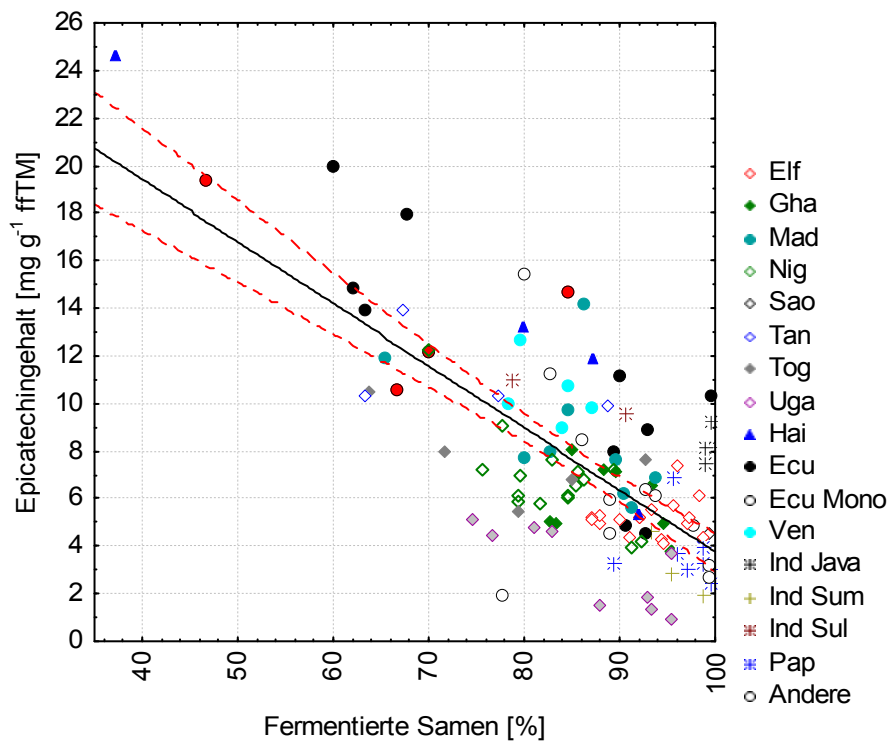


Abb. 107 Beziehung zwischen dem Anteil an fermentierten Samen und dem Epicatechingehalt
 Als schwarze Linie eingezeichnet ist die Regressionsgerade, rot dargestellt ist das 95%-Konfidenz-
 Intervall ($r^2 = 0,52$; $r = -0,72$; bei $p = 0,01$; Regressionsgleichung: $y = 29,86 - 0,26 \cdot x$).

Bis auf die Glutaminsäuregehalte sind die Variablen aller proteinogener FAA mit vergleichsweise hohen Korrelationskoeffizienten (bis $r^2 = 0,72$) sehr eng mit den Säurewerten Essig- und Milchsäuregehalt und dem pH-Wert korreliert. Am Beispiel des FAA-Gesamtgehaltes sind die Zusammenhänge mit dem Essig- und Milchsäuregehalt in den Abb. 108 und Abb. 109 dargestellt. Nur geringfügig weniger stark ist der Zusammenhang mit dem Theobromingehalt und dem Epicatechingehalt (nicht dargestellt).

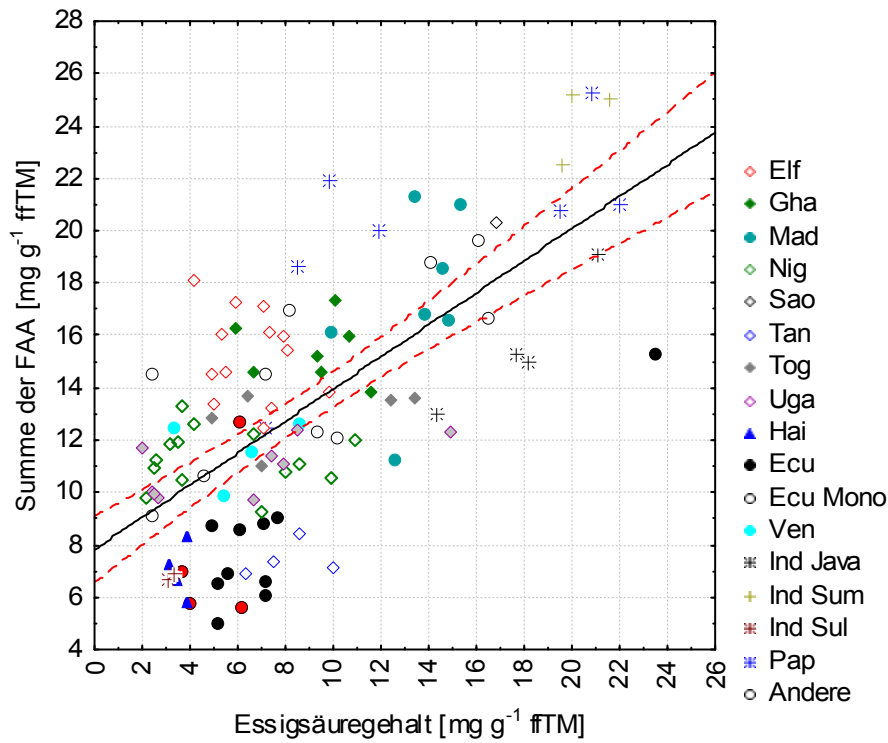


Abb. 108 Zusammenhang zwischen der Summe der FAA-Gehalte und dem Essigsäuregehalt
 Als schwarze Linie eingezeichnet ist die Regressionsgerade, rot dargestellt ist das 95%-Konfidenzintervall ($r^2 = 0,46$; $r = 0,68$; bei $p = 0,01$; Regressionsgleichung: $y = 7,83 + 0,61 \cdot x$)

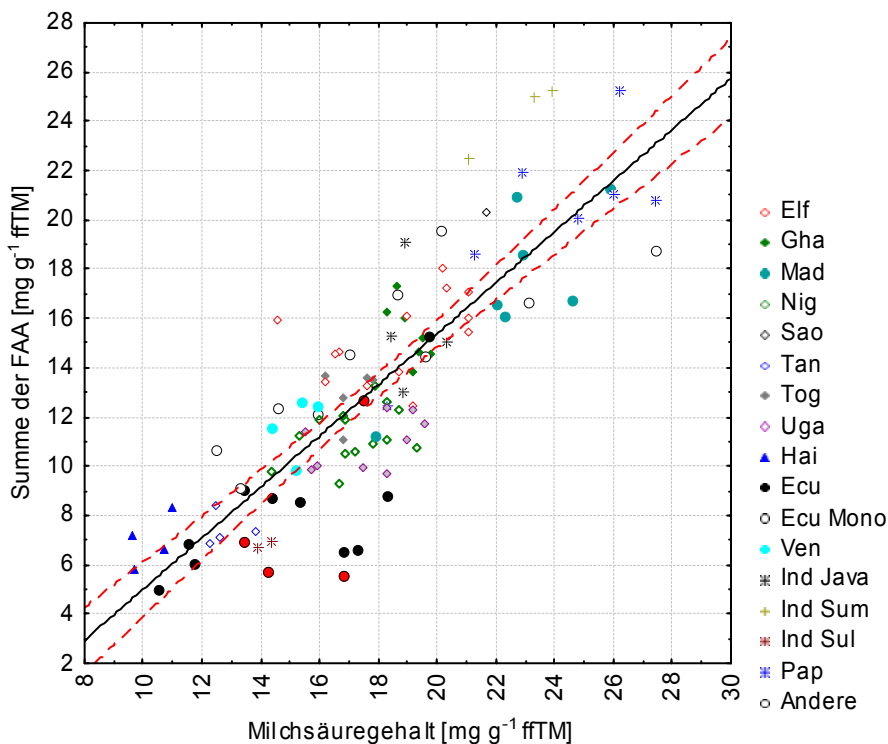


Abb. 109 Zusammenhänge zwischen der Summe der FAA-Gehalte und dem Milchsäuregehalt
 Als schwarze Linie eingezeichnet ist die Regressionsgerade, rot dargestellt ist das 95%-Konfidenzintervall ($r^2 = 0,70$; $r = 0,84$; bei $p = 0,01$; Regressionsgleichung: $y = -5,36 + 1,04 \cdot x$)

Der GABA-Wert ist mit dem Epicatechingehalt ($r = 0,67$; $r^2 = 0,45$ Abb. 110) und dem Antioxidativen Potenzial ($r = 0,60$; $r^2 = 0,36$) positiv korreliert, mit anderen biochemischen Variablen korrelierte er nicht oder nur sehr schwach.

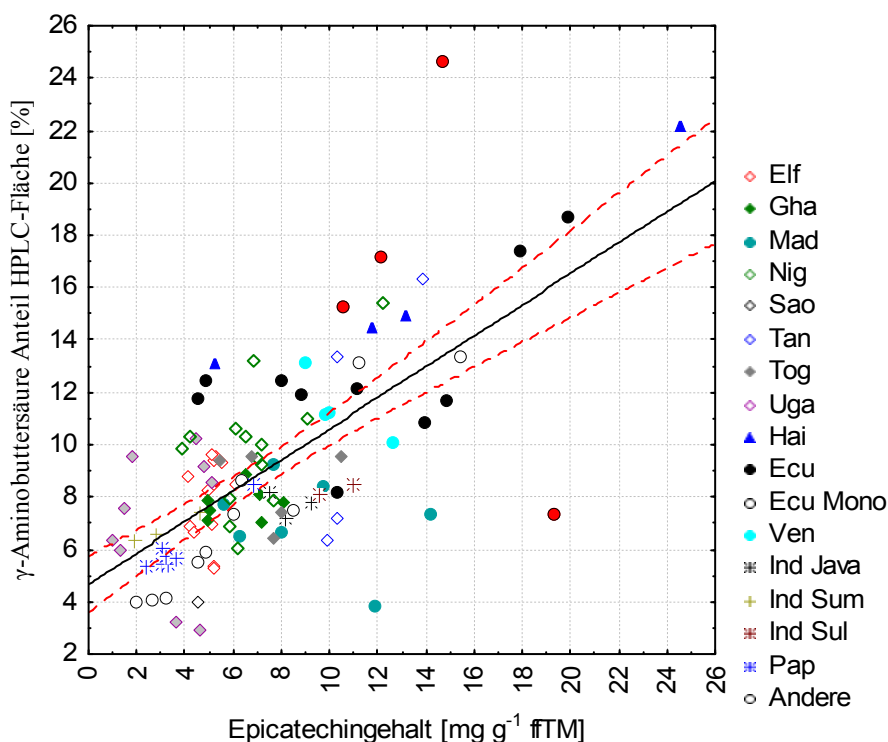


Abb. 110 Zusammenhang zwischen dem γ -Aminobuttersäure Anteil (GABA-Wert) und dem Epicatechingehalt
 Als schwarze Linie eingezeichnet ist die Regressionsgerade, rot dargestellt ist das 95%-Konfidenzintervall ($r^2 = 0,45$; $r = 0,66$; bei $p = 0,01$; Regressionsgleichung: $y = 4,68 + 0,59 \cdot x$)

Da die Anzahl der untersuchten Variablen sehr groß war und damit die korrelativen Beziehungen aller Variablen zueinander in Form der Korrelationsmatrizen wenig übersichtlich sind, wurde im Anschluss an die bivariate Untersuchung eine Hauptkomponentenanalyse (PCA) durchgeführt. Diese Analysemethode bietet die Möglichkeit, die einzelnen Variablen grafisch zu wenigen Variablengruppen zu ordnen.

4.1.8.2 Multivariate Zusammenhänge zwischen den Variablen

Unter Ausschluss der Proben, deren FAA-Gehalte nicht bestimmt wurden, wurden die Daten von 105 Proben einer Hauptkomponentenanalyse (PCA) unterzogen. Hierfür wurden 37 Variablen verwendet (Anzahl *schiefrieger*, *violetter*, *fermentierter* Samen, Samengewicht, Prozentanteil der Testa, Testagewicht, pH-Wert, Stickstoffgehalt, Epicatechingehalt, Gesamtphenolgehalt, Antioxidatives Potenzial, Essigsäure- und Milchsäuregehalt, Coffein- und Theobromingehalt, Quotient aus Theobromin zu Coffein, GABA-Wert, Gesamtgehalt an FAA, alle proteinogenen FAA außer Lysin, Methionin, Glutamin, Tryptophan und Histidin, Fettgehalt und die Anteile an Palmitinsäure, Stearinsäure, Ölsäure und POP-Triglyceriden). Die in einem PCA-Plot dargestellten Werte veranschaulichen die Beziehungen, die zwischen diesen 37 Variablen bestehen (Abb. 111).

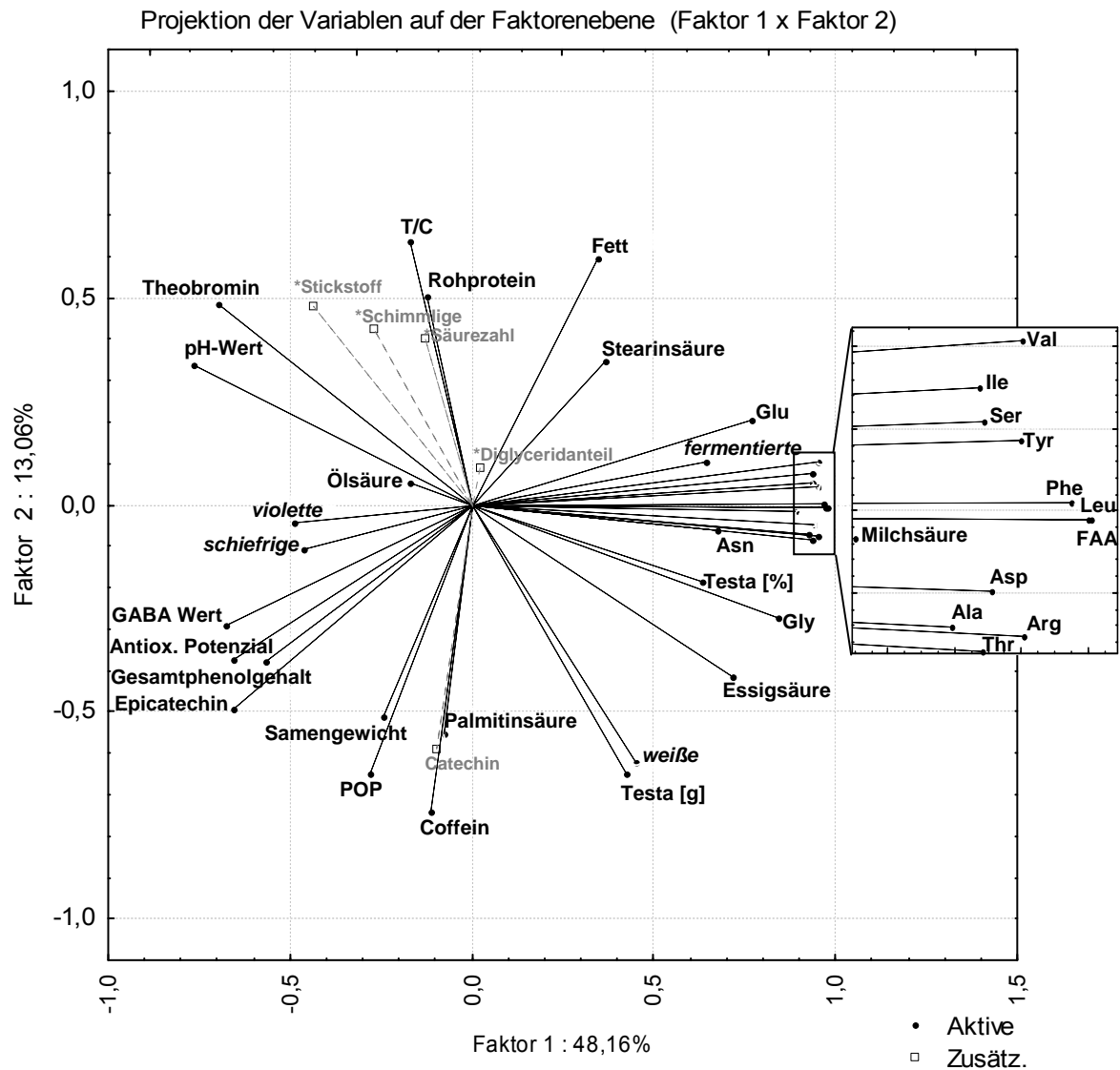


Abb. 111 Grafische Darstellung der Hauptkomponentenanalyse (PCA) von 37 Variablen
 Grundlage der Analyse sind 37 aktive Fälle (Parameter) von 105 Proben (außer Proben deren FAA-Gehalte nicht ermittelt wurden, *T. grandiflorum*-Proben und Uga 2, 8, 9; siehe Tab. 4 in Kapitel 3.1.2). Der Analyse liegen die Werte der folgenden, als aktive bezeichnete, Parameter zugrunde: Anteil *schiefriger*, *violetter*, *weißer* (entspricht der Variable *hellbrechende* Samen), *fermentierter* Samen, Samengewicht, Testa-Anteil (Testa [%]), Testagewicht (Testa [g]), pH-Wert, Gesamtphenolgehalt, Antioxidatives Potenzial (Antiox. Potenzial), Gehalt an Epicatechin, Essigsäure, Milchsäure, Rohprotein, Coffein und Theobromin, Quotient aus Theobromin- zu Coffeingehalt (T/C), GABA-Wert, FAA-Gesamtgehalt (FAA), alle Einzelwerte proteinogener FAA außer Lysin, Histidin, Methionin, Tryptophan und Glutamin, Fettgehalt und die Anteile an Palmitinsäure, Stearinsäure, Ölsäure und POP-Triglyceriden (POP); außerdem wurden 5 zusätzliche, d.h. nicht berechnete Parameter eingezeichnet: Anteil schimmlicher Samen, Catechingehalt (Catechin), Stickstoffgehalt, Säurezahl und Diglyceridanteil. Eigenwerte und Anteil an erklärter Varianz (%): Faktor 1: 17,82 (48,16%), Faktor 2: 4,83 (13,06%).
 Nicht dargestellt: Faktor 3: 2,49 (6,73%), Faktor 4: 2,02 (5,46%), Faktor 5: 1,54 (4,16%).

Der in Abb. 111 dargestellte PCA-Plot der Rohkakaoanalysen erklärt über 60% aller auftretenden Unterschiede zwischen den Merkmalsausprägungen der Proben. Dabei waren die Gruppe der phenolischen Substanzen (Antioxidatives Potenzial, Gesamtphenolgehalt und Epicatechingehalt außer Catechingehalt) positiv mit dem Anteil an *schiefrigen*, *violetten* Samen und dem GABA-Wert korreliert. Diese Gruppe von Variablen zeigte u. a. keine

Abhängigkeit zu dem Verhältnis aus Theobromin- zu Coffeingehalt. Der Essigsäuregehalt, der Anteil der Testa, der Milchsäuregehalt und der Gesamtgehalt an FAA und alle proteinogenen FAA waren mit dem pH-Wert, dem Theobromingehalt und den Anteilen an *schiefrigen* und *violetten* Samen korreliert.

Der Anteil *hellbrechender* Samen, in der Grafik als *weiße* bezeichnet, und das Testagewicht (Testa [g]) waren negativ mit dem T/C-Verhältnis, dem Theobromingehalt und dem Rohproteingehalt korreliert.

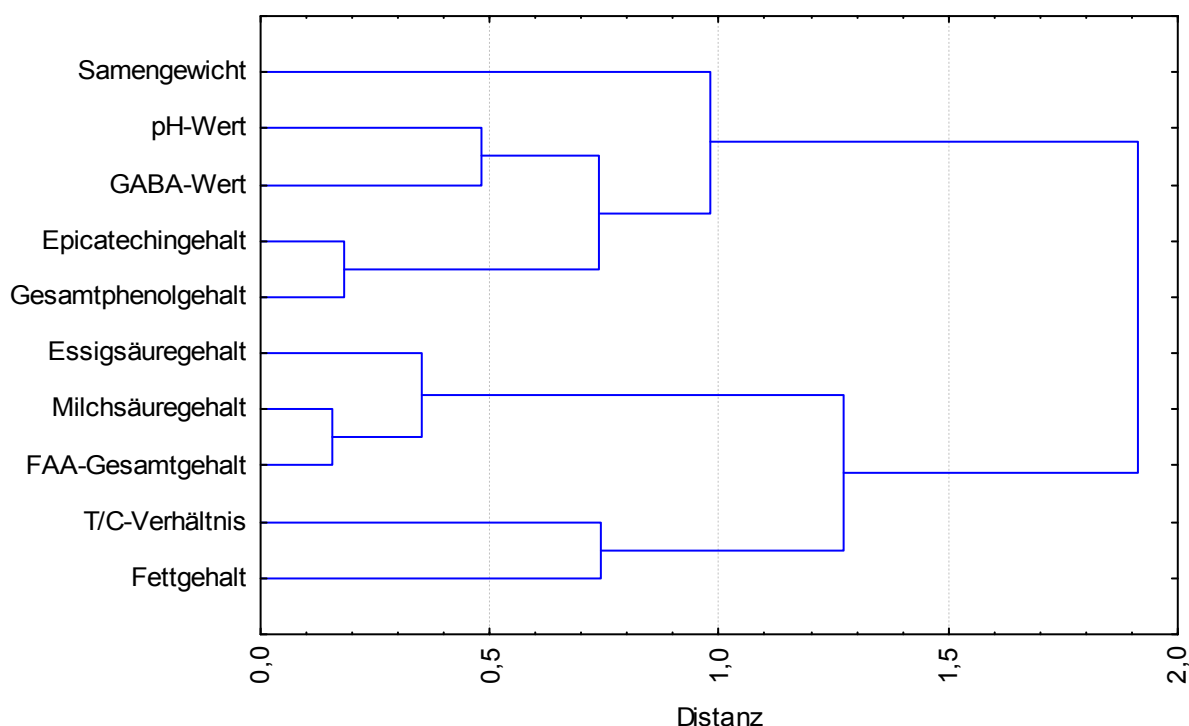


Abb. 112 Grafische Darstellung der agglomerativen Clusteranalyse
 Als Datengrundlage diente eine quadratische Korrelationsmatrix (Korrelationskoeffizient r) der 10 Variablen Samengewicht, pH-Wert, GABA-Wert, Epicatechingehalt, Gesamtphenolgehalt, Essig- und Milchsäuregehalt, FAA-Gesamtgehalt (FAA), T/C-Verhältnis (T/C) und Fettgehalt.

Für die weitere Beschreibung der Zusammenhänge zwischen den verschiedenen Variablen wurde eine Clusteranalyse nach der complete linkage Methode durchgeführt. Ausgehend von den Ergebnissen der PCA wurden hierfür aus jeder der in Kapitel 4.1.2 bis 4.1.7 beschriebenen Gruppen mindestens eine repräsentative Variable, insgesamt 10 Variablen, ausgewählt. Anhand der Darstellung in Abb. 112 ist erkennbar, dass sich diese 10 Variablen zunächst in zwei größere Cluster unterteilen. Der erste Cluster beinhaltet die Variablen Fettgehalt, Quotient aus Theobromin- zu Coffeingehalt, Essig-, Milchsäuregehalt und FAA-Gesamtgehalt. Er teilt sich weiter in zwei Untergruppen: die erste Gruppe enthält die Variablen Fettgehalt und Quotient aus Theobromin- zu Coffeingehalt. Die zweite Untergruppe des ersten Clusters enthält die Variablen Essig-, Milchsäuregehalt und FAA-Gesamtgehalt. Der zweite Cluster beinhaltet die Variablen Samengewicht, pH-Wert, GABA-Wert und die beiden Variablen Epicatechin- und Gesamtphenolgehalt. Dabei steht das Samengewicht in größerer Distanz zu den beiden Untergruppen pH-Wert und GABA-Wert

sowie Epicatechingehalt und Gesamtgehalt an phenolischen Substanzen und unterscheidet sich damit deutlich von beiden Untergruppen.

4.1.8.3 Zusammenfassung

Einige der untersuchten Variablen sind eng miteinander korreliert. Insbesondere zwischen den Variablen der phenolischen Substanzen, der freien Aminosäuren und der Säurewerte bestehen enge Beziehungen. Dabei verhält sich das Ergebnis der nichtproteinogenen Aminosäure GABA invers zu denen der anderen FAA oder korreliert nicht mit anderen Variablen. Die Ergebnisse zeigen außerdem, dass der Anteil an *fermentierten* Samen mit der Gruppe der Variablen der phenolischen Substanzen korrelierte. Der Anteil *schiefziger* und *violetter* Samen korreliert mit den FAA-Gehalten und dem Milchsäuregehalt.

Weiterhin deutet die PCA auf einen Zusammenhang zwischen dem Anteil an *hellbrechenden* Samen und dem Stickstoff-, Rohprotein- und Theobromingehalt hin.

4.1.9 Unterschiede zwischen Rohkakao unterschiedlicher Herkunft sowie zwischen Edel- und Konsumkakao mittels multifaktorieller Analysen

Basierend auf der Hauptkomponentenanalyse, die der Abb. 111 zugrunde liegt, stellt der PCA-Plot in Abb. 113 die entsprechenden Positionen der zugehörigen 105 Rohkakaoproben dar. Der 1. Faktor erklärt 48,1% der Unterschiede zwischen den Proben und trennt deutlich Proben aus Ecuador, Haiti, Sulawesi und Tansania von Proben aus Madagaskar, Java, Papua-Neuguinea und Sumatra. Westafrikanische Proben wurden über diesen Faktor nicht getrennt. Über den 2. Faktor, der 13% der Unterschiede erklärt, wurden die afrikanischen Proben aus Ghana, der Elfenbeinküste, Nigeria, São Tomé, Uganda und Togo von Proben aus Tansania und den Ländern und Regionen getrennt, die nach Annex C des Internationalen Kakaoabkommens als Edelkakao produzierende Länder gelistet sind: Ecuador, Madagaskar, Indonesien (Java, Sumatra), Venezuela, Papua-Neuguinea. Die Probe Ecu 5 liegt weit getrennt von den anderen Proben aus Ecuador in der Nähe der Javaproben. Proben aus Sulawesi werden über den ersten Faktor sehr gut von den eng beieinander liegenden Proben aus Sumatra und Java getrennt, die Proben Ind 1 liegt getrennt von den anderen indonesischen Proben in der Gruppe der westafrikanischen Proben.

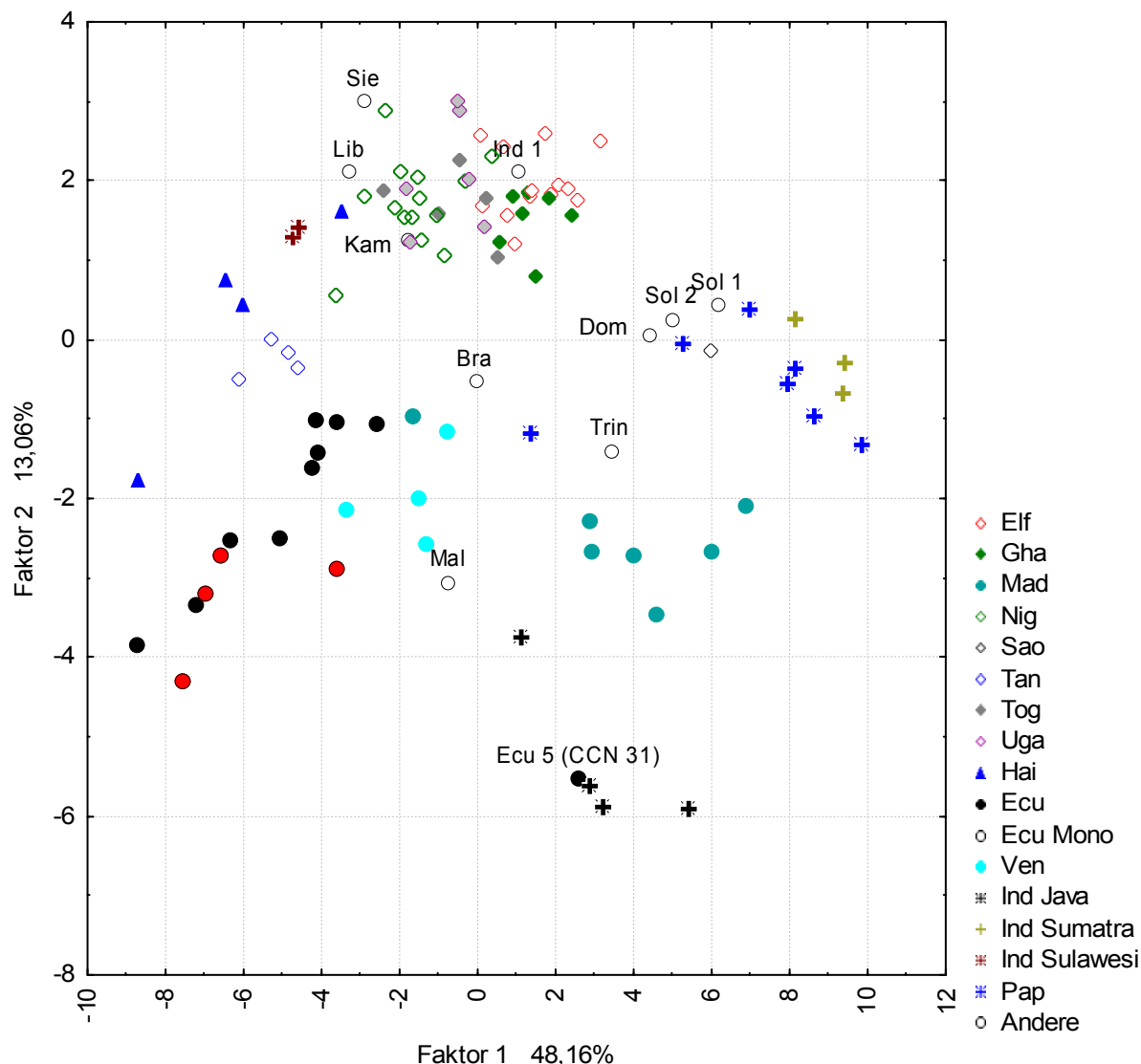


Abb. 113 Grafische Darstellung der Hauptkomponentenanalyse der untersuchten Rohkakaoproben
 Details der Analyse siehe Abb. 111.

Mit Hilfe der Diskriminanzanalyse wurde im Folgenden überprüft, auf welche der Variablen sich Gruppenunterschiede (hier Herkunft) hauptsächlich zurückführen lassen bzw. welche der Variablen sich für die Gruppenbildung besonders eignen.

Prinzipiell lassen sich über diese Erkenntnisse diejenigen Variablen aufzeigen, die die Gruppenbildung am stärksten beeinflussen. Im Idealfall kann dann mit Hilfe dieser Merkmale später die Zuordnung unbekannter Proben zu bestimmten Gruppen (Herkünften oder Unterscheidung in Edel- und Konsumkakao) erfolgen. Anders als bei der Hauptkomponentenanalyse und der Clusteranalyse, wurden die Herkünfte der Proben hier als Gruppierungsvariablen vorgegeben.

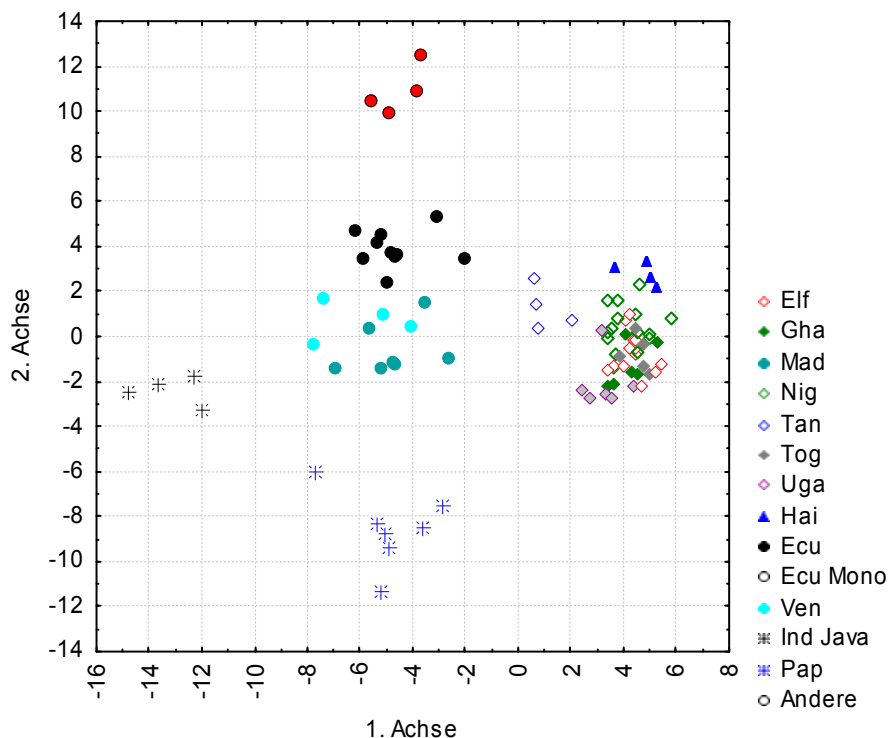


Abb. 114 Grafische Darstellung der Diskriminanzanalyse von Rohkakaoproben aus 13 Herkunftfen Dargestellt sind die ersten beiden Achsen der Diskriminanzanalyse. Der Diskriminanzanalyse liegen die Merkmalsausprägungen von insgesamt 89 Proben aus 13 Herkunftfen zugrunde (Auflistung der Proben siehe Tab. 3 in Kapitel 3.1.2, Herkunftfen siehe Grafik). Die folgenden 22 Merkmale wurden für die Berechnung verwendet: Samengewicht, Theobromin-, Coffein-, Rohproteingehalt, pH-Wert, Fettgehalt, Anteil an POS-, SOS-Triglyceriden, Palmitinsäure, Stearinsäure, Ölsäure und Diglyceriden, Catechin- und Epicatechingehalt, Milch- und Essigsäuregehalt, Antioxidatives Potenzial, Gesamtphenolgehalt, Test-Anteil [%], GABA-Wert, Gesamt FAA, Samengewicht. Statistische Kennwerte der Analyse: Wilk's-Lambda: 0,0000010 approx. $F_{(264,614)} = 6,267$ $p < 0,0000$.

Die Ergebnisse der Diskriminanzanalyse sind in Abb. 114 grafisch als kanonische Diskriminanzfunktion abgebildet. Dabei wurden die Proben im Koordinatenkreuz so angeordnet, dass die größtmöglichen Unterschiede zwischen den Gruppen (Herkunftfen) dargestellt wurden.

Über die erste Achse wurden die Proben der Herkunft Java von denen der anderen Herkunftfen Edelkakaobauender Herkunftfenregionen, also Papua-Neuguinea, Venezuela, Madagaskar und Ecuador, getrennt. Von diesen trennte sich außerdem eine dritte Gruppe bestehend aus den afrikanischen Herkunftfen Elfenbeinküste, Ghana, Tansania, Togo, Nigeria und Uganda sowie der Herkunftfen Haiti.

Über die zweite Achse wurden Proben der Herkunftfen Papua-Neuguinea sowie die klonalen Proben aus Ecuador von Proben aus Madagaskar, Venezuela und Ecuador getrennt. Außerdem trennten sich die Proben aus Haiti von den afrikanischen Proben der dritten Gruppe. In Abb. 115 wird diese Trennung durch Gegenüberstellung der dritten Achse und der ersten Achse noch deutlicher.

Über die dritte Achse wurden nun auch die Proben der Herkunftfen Tansania, Uganda und Togo von den Proben aus Ghana getrennt. Über die vierte Achse lassen sich schließlich auch die Proben aus Venezuela von denen aus Madagaskar sowie die Proben aus Nigeria von denen

der Elfenbeinküste trennen (Abb. 116). Proben aus Uganda wurden von Proben aus Ghana durch die 5. Achse getrennt (Abb. 117).

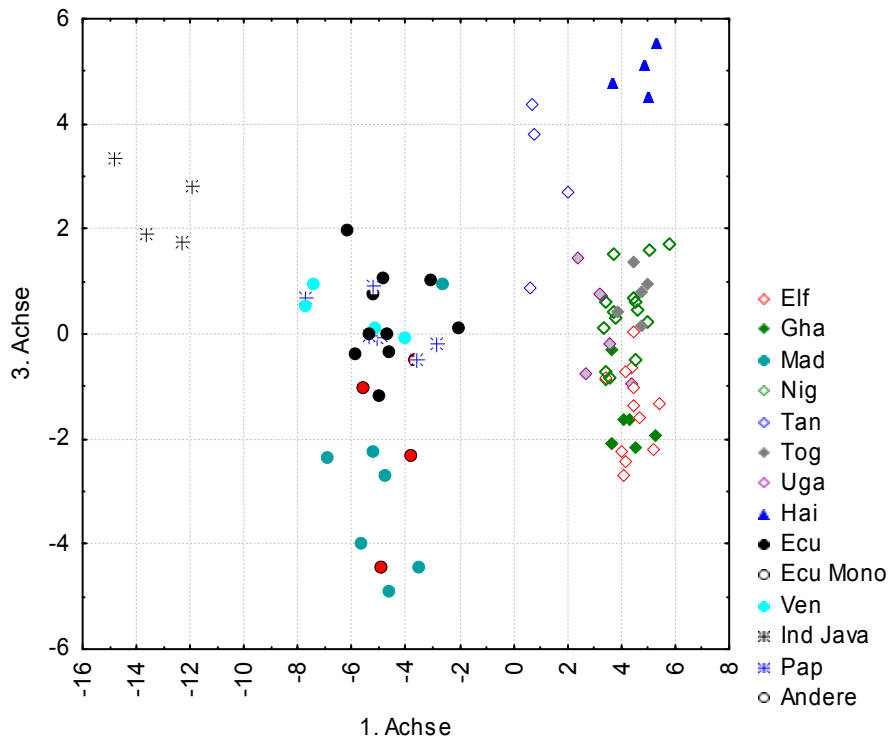


Abb. 115 Grafische Darstellung der Diskriminanzanalyse von Rohkakaoproben aus 13 Herkunftsn Dargestellt sind die 3. und 1. Achse der Diskriminanzanalyse. Informationen zur Analyse siehe Abb. 114.

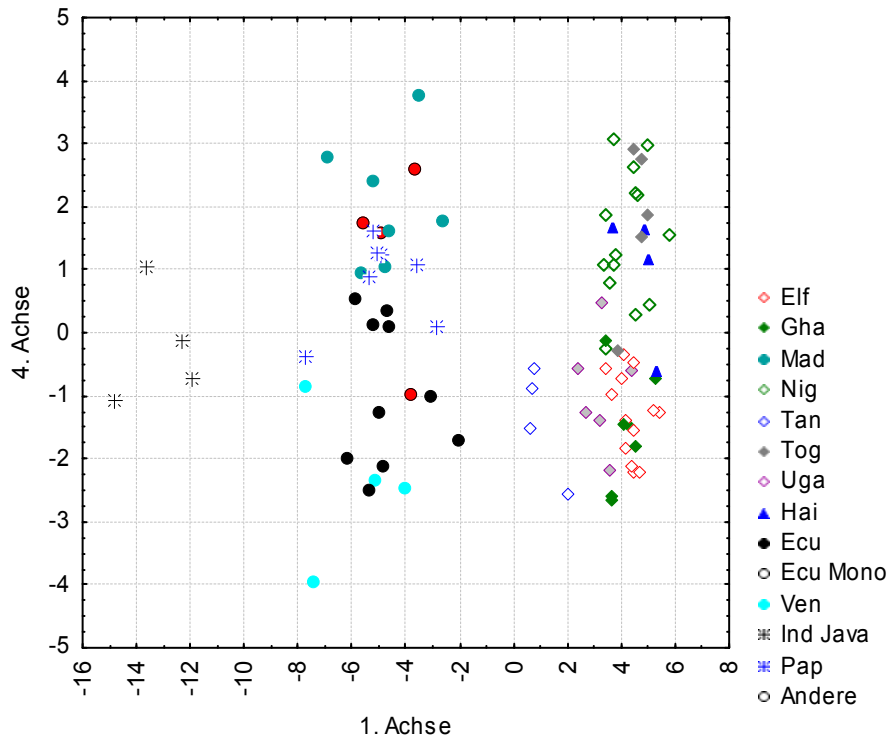


Abb. 116 Grafische Darstellung der Diskriminanzanalyse von Rohkakaoproben aus 13 Herkunftsn Dargestellt sind die 4. und 1. Achse der Diskriminanzanalyse. Informationen zur Analyse siehe Abb. 114.

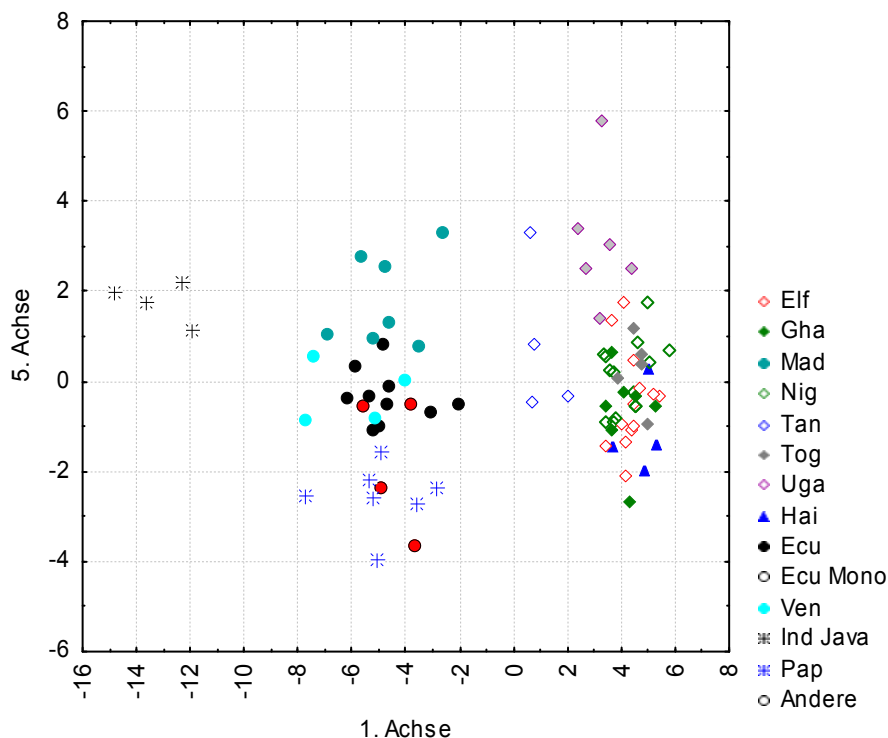


Abb. 117 Grafische Darstellung der Diskriminanzanalyse von Rohkakaoproben aus 13 Herkunftfen Dargestellt sind die 5. und 1. Achse der Diskriminanzanalyse. Informationen zur Analyse siehe Abb. 114.

Insgesamt wurden im Nachhinein durch die berechneten Modellfunktionen der Diskriminanzanalyse über 94% der Proben ihrer richtigen Herkunftsgruppe zugeordnet. Die Proben von 10 Gruppen wurden zu 100% richtig klassifiziert, die Proben der Herkunftfe Elf, Nig, Gha und Togo wurden zu 92,3%, 85,7%, 85,7% bzw. 80,0% richtig klassifiziert. Zwei Nigeria-Proben wurden fälschlicherweise in die Togo-Gruppe, eine der Togo Proben in die Nigeria-Gruppe, eine Probe von der Elfenbeinküste in die Ghana-Gruppe und eine Ghana Probe wurde mit diesem Modell zu den Proben der Elfenbeinküste sortiert.

In Tab. 14 sind die 4 jeweils größten und kleinsten standardisierten kanonischen Diskriminanzfunktionskoeffizienten der Variablen für die ersten 5 Faktoren dargestellt. Daraus geht hervor, dass die Trennung der Gruppen über die erste Funktion in erster Linie durch die Variablen Coffein-, Theobromin-, Milchsäure- und Rohproteingehalt beeinflusst wurde. Die absoluten Werte und Vorzeichen der kanonischen Diskriminanzfunktionskoeffizienten geben hierbei Hinweise auf die Art und die Stärke des Einflusses. So wiesen z.B. Herkunftfe mit im Mittel hohen Coffeingehalten gleichzeitig niedrige Rohproteingehalte auf. Unterschiede im Fettgehalt, dem Gesamtgehalt an FAA, dem Epicatechingehalt, dem Essigsäuregehalt und dem pH-Wert wurden über die zweite Funktionsachse beschrieben.

Mit den ersten beiden Faktoren wurde ein Anteil an erklärter Varianz von 79% erreicht. Die Güte der Diskriminanzanalyse ist entsprechend den sehr niedrigen Wilk's-Lambda-Werten der ersten Faktoren sehr hoch. In Tab. 15 sind die Gütemaße Eigenwert, kanonischer Korrelationskoeffizient, Wilk's-Lambda-Wert und das Signifikanzniveau der Diskriminanzanalyse aufgelistet.

Tab. 14 Standardisierte kanonische Diskriminanzfunktionskoeffizienten der Variablen
 Zeichenerklärung: *=-gehalt, **= -anteil.

	1. Achse		2. Achse		3. Achse		4. Achse		5. Achse
Coffein*	-1,197	Fettgehalt	-0,714	Milchsäure*	-0,844	Gesamt PP	-0,981	C 16**	-0,696
Milchsäure*	-0,550	FAA*	-0,466	Rohprotein*	-0,442	Rohprotein*	-0,586	C 18**	-0,692
Samen [g]	-0,464	Testa [%]	-0,409	Theobromin*	-0,396	C 16**	-0,546	Fettgehalt	-0,573
Catechin*	-0,266	C 18**	-0,356	FAA*	-0,365	Fettgehalt	-0,464	Samen [g]	-0,471
FAA*	0,304	C 16**	0,562	Diglycerid**	0,546	Diglycerid**	0,528	POS**	0,094
SOS**	0,369	Essigsäure*	0,675	SOS**	0,697	Essigsäure*	1,027	Catechin*	0,188
Rohprotein*	0,505	Epicatechin*	0,727	pH	1,208	Epicatechin*	1,245	Theobromin*	0,383
Theobromin*	0,850	pH	0,859	Essigsäure*	1,719	pH	1,282	Milchsäure*	0,397
Eigenwerte	31,42		17,62		3,96		2,38		2,23
Kumulativ %	0,50		0,79		0,85		0,89		0,93

Tab. 15 Statistische Kennwerte der Diskriminanzanalyse

Der Diskriminanzanalyse liegen die Merkmalsausprägungen von insgesamt 89 Proben aus 13 Herkunftsn zu Grunde. Die folgenden 22 Merkmale wurden für die Berechnung verwendet: Samengewicht, Theobromin-, Coffein-, Rohproteingehalt, pH-Wert, Fettgehalt, Anteil an POS-, SOS-Triglyceriden, Palmitinsäure, Stearinsäure, Ölsäure und Diglyceriden, Catechin- und Epicatechingehalt, Milchsäure- und Essigsäuregehalt, Antioxidatives Potenzial, Gesamtphenolgehalt, Testa [%], GABA-Wert, Gesamt FAA, Samengewicht. Statistische Kennwerte der Analyse: Wilk's-Lambda: 0,0000010 approx. $F(264,614) = 6,266754$ $p < 0,0000$. Abkürzungen: FG = Freiheitsgrade, p-Wert = Irrtumswahrscheinlichkeit der sukzessiv entfernten Achsen.

Achse Entfernung	Eigenwert	Kanonische Korrelation	Wilk's-Lambda	Chi ² -Test	FG	p-Wert
0	31,42	0,984	0,000001	958,4	264	0,0000
1	17,62	0,973	0,000040	713,1	231	0,0000
2	3,96	0,894	0,000753	507,0	200	0,0000
3	2,38	0,839	0,003740	394,0	171	0,0000
4	2,23	0,831	0,012656	308,1	144	0,0000
5	1,67	0,791	0,040929	225,3	119	0,0000
6	1,14	0,729	0,109369	156,0	96	0,0001
7	0,80	0,666	0,233675	102,5	75	0,0192
8	0,49	0,575	0,420293	61,1	56	0,2976
9	0,26	0,451	0,627548	32,8	39	0,7455
10	0,13	0,345	0,787874	16,8	24	0,8567
11	0,12	0,326	0,894019	7,9	11	0,7224

4.1.10 Zusammenfassung Kapitel 4.1: Warenkundliche Charakteristika von Rohkakao

Die warenkundliche Untersuchung von 120 Rohkakaoproben unterschiedlicher Herkunft erbrachte zusammengefasst die folgenden Ergebnisse:

Viele der untersuchten Variablen wiesen eine sehr hohe Schwankungsbreite über die Gesamtprobenzahl auf. Wurden die Proben entsprechend ihrer Herkunft gruppiert und die Schwankungsbreiten für die Variablen berechnet, verringerten sich diese für die meisten der Variablen statistisch signifikant.

Über die Analyse einzelner biochemischer Variablen konnte zwischen Rohkakao aus bestimmten Anbaugebieten unterschieden werden. So enthielt z.B. Rohkakao aus Herkunftsn wie Java, Venezuela und Madagaskar (die zu den Edelkakao anbauenden Regionen zählen) in der Regel mehr Coffein als westafrikanischer Rohkakao. Nur Proben aus Papua-Neuguinea, Madagaskar und Java wiesen sehr niedrige pH-Werte auf. Die Identifikation der Herkunft

einer Probe ist jedoch über die Analyse nur eines der hier untersuchten Merkmale nicht eindeutig möglich. Wie über die Hauptkomponenten- und die Diskriminanzanalysen deutlich wurde, erwiesen sich einige Merkmalskombinationen als geeignet, um zwischen Proben bestimmter Herkünfte bzw. Herkunftsgruppen zu diskriminieren.

Es wurde festgestellt, dass die Clusterung in Herkünfte, die Edelkacao produzieren und andere Herkünfte über die Diskriminanzanalyse insbesondere über die Merkmalsausprägungen Coffein-, Theobromin-, Milchsäure- und Rohproteingehalt beeinflusst wurden.

Dabei wiesen die Proben der Herkünfte, die Edelkacao anbauen, vergleichbare Coffeingehalte auf, separierten sich aber entsprechend ihrer Herkunft untereinander durch verschiedene Ausprägungen der Variablen Theobromingehalt und Essig- und Milchsäuregehalt. Im Gegensatz dazu unterschieden sich Proben der Gruppe der westafrikanischen Herkünfte weniger voneinander (z. B. die Variablen Milchsäure-, Essigsäure-, und Theobromingehalt betreffend) und wiesen nur geringe diskriminierende Unterschiede zwischen wenigen Merkmalen (u. a. Gesamtphenolgehalt und Epicatechingehalt) auf.

Zwischen einigen der untersuchten Parameter bestehen enge Zusammenhänge. Insbesondere Parameter, die für die Beschreibung der Fermentation von Bedeutung sind, korrelierten stark. So konnte gezeigt werden, dass der Anteil an fermentierten Samen, der pH-Wert, die Essigsäuregehalte und noch stärker die Milchsäuregehalte eng mit den Gehalten an proteinogenen FAA korrelierten. Des Weiteren waren die nichtproteinogene FAA GABA und die Summe der Anteile an *violetten* und *schiefrigen* Samen positiv mit den Merkmalen der phenolischen Substanzen korreliert. Die Anteile an *violetten* und *schiefrigen* Samen bzw. der Anteil an fermentierten Samen schwankte innerhalb einer Herkunft von Probe zu Probe teilweise sehr stark.

Bei der Auswertung der Schnittbilder wurde eine Besonderheit bei den Zwischenstadien *schiefrig-violett*, *violett-braun* und *schiefrig-braun* festgestellt, die die Vermutung nahe legt, dass der die Farbveränderung hervorrufende Ansäuerungsprozess durch die Testa beeinflusst wird.

Wie in Kapitel 4.1.7 beschrieben, haben nur Proben der Herkünfte Java, Papua-Neuguinea, Madagaskar, Ecuador und Sumatra einen sehr hohen Anteil an *hellbrechenden* Samen. Solche Proben zeichneten sich häufig auch durch höhere Samen- und Testagewichte aus. Diese Merkmale addieren sich zu den Befunden, dass *hellbrechende* Edelkacaos ein besonders hohes T/C-Verhältnis und hohe Coffeingehalte aufweisen. Diese Herkünfte sind im Annex C des Internationalen Kakaoabkommens gelistet und produzieren überwiegend Edelkacao.

Fazit

Es wurden unter den Proben sowohl deutliche herkunftsspezifische als auch auf die Nachernteverfahren bezogene Gemeinsamkeiten festgestellt. Innerhalb der Herkünfte, die Edelkacao produzieren und solchen aus Westafrika (Konsumkacao produzierende Herkünfte) wurde die größte Variabilität bei den Variablen Säurewerte, phenolische Substanzen und

Anteile an verschiedenen Fermentationsstadien festgestellt. Diese Merkmale sind in erster Linie durch Nachernteverfahren beeinflusst. Da die Anteile an *violetten* und *schiefrigen* Stadien von Probe zu Probe stark schwankten, die Proben also in sich inhomogen waren, stellt sich die Frage, ob es Grundsatzunterschiede innerhalb einer Probe gibt, die durch die unterschiedlichen Anteile dieser Stadien hervorgerufen werden.

Welche Unterschiede bestehen zwischen diesen Stadien?

4.2 Untersuchung von Fermentationsstadien

4.2.1 Vorbemerkung

Rohkakao wird immer mehr als eine Ressource zur Lieferung unterschiedlicher Komponenten gehandelt, wobei einerseits der Fettanteil, andererseits das Aroma, der Gehalt an antioxidativ wirksamen Substanzen und der Gehalt an phenolischen Substanzen mit gesundheitsfördernden Eigenschaften von großer Bedeutung sind.

Wie bereits in Kapitel 4.1.8 dargestellt, ergeben sich teils hohe signifikante Zusammenhänge zwischen den Ergebnissen des Schnitt-Testes und den Analyseergebnissen der Variablen Epicatechingehalt, pH-Wert, Essigsäure- und Milchsäuregehalt. In diesem Kapitel soll exemplarisch untersucht werden, ob und inwieweit sich Fermentationsstadien einer Rohkakaoprobe in Bezug auf ihre biochemischen Eigenschaften unterscheiden. Ist dies der Fall, schließt sich die Frage an, ob *schiefrige* oder *violette* Stadien nicht eventuell gezielt zur Lieferung bestimmter wertgebender Eigenschaften, wie z. B. hohe Anteile an phenolischen Substanzen, verwendet werden könnten.

Für die Untersuchungen wurden die Fermentationsstadien *schiefrig*, *violett* und *braun* von 5 Jahre gelagertem Rohkakao und von frisch gehandeltem Rohkakao verwendet.

4.2.2 Zusammensetzung der untersuchten Rohkakaos

Von den im Cocoa Atlas 2002 untersuchten Proben wurden 4 Proben für die stadienspezifischen Analysen (Hai 1, Ind 4, Gha 6, Tan 4) ausgewählt. Zusätzlich wurde eine frische Handelsprobe aus Ecuador analysiert. In Tab. 16 sind die Proben und ihre Anteile der Fermentationsstadien *schiefrig*, *violett* und *braun* dargestellt.

Tab. 16: Stadien-Zusammensetzung der Rohkakaoproben
Mit den Anteilen der Stadien *violett-braun*, *hellbraun* und *weiß* addieren sich die Prozentwerte jeweils zu 100%. Die Angaben stellen die Mittelwerte des Schnitt-Testes (Kap. 3.2.1.1) dar.

Alter [Jahre]	Herkunft	Probennummer	<i>schiefrig</i> [%]	<i>violett</i> [%]	<i>braun</i> [%]
5	Haiti	Hai 1	48	10	37
	Indonesien (Sulawesi)	Ind 4	12	4	84
	Ghana	Gha 6	<1	13	85
	Tansania	Tan 4	3	13	77
1	Ecuador	Ecu	3	6	49

4.2.3 pH-Wert der Fermentationsstadien

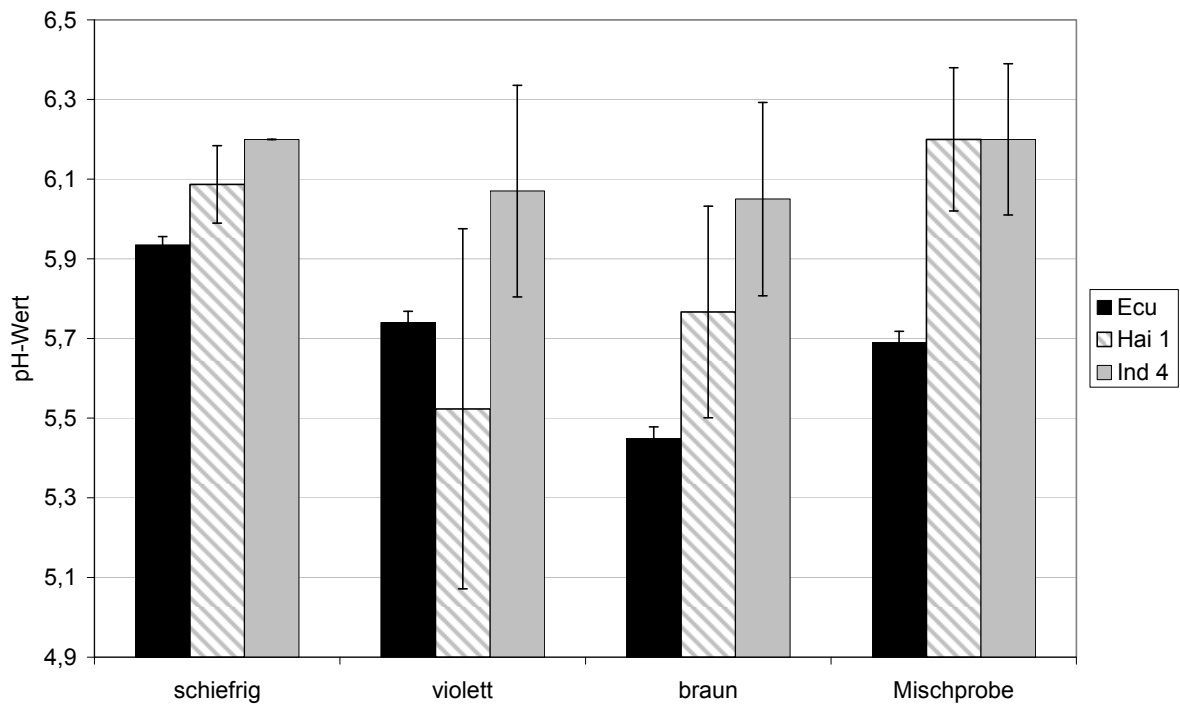


Abb. 118 pH-Werte der Fermentationsstadien *schiefrig*, *violett* und *braun* Mittelwerte und Standardabweichung von drei Samen; n = 3.

Die pH-Werte der Samen aus der indonesischen Probe Ind 4 unterschieden sich nicht deutlich voneinander. Bei den Samen der Probe Hai 1 variierten die pH-Werte stark. Die pH-Werte der *violetten* und *braunen* Samen sind im Trend niedriger als die der *schiefrigen* Samen. Bei der Probe aus Ecuador waren die pH-Werte der *violetten* und *braunen* Samen niedriger als die der *schiefrigen* Samen (Abb. 118).

4.2.4 Residualaktivitäten ausgewählter Enzyme in Samen unterschiedlicher Fermentationsstadien

4.2.4.1 Aktivität der Aspartylendoprotease

Insgesamt war die Aktivität der Aspartylendoprotease in den fermentierten und getrockneten Samen der drei untersuchten Stadien mit 19 bis 55 pkat g⁻¹ffTM sehr niedrig. In den Stadien *schiefrig* und *violett* wurde in allen Proben jeweils eine höhere Aktivität der Aspartylendoprotease gemessen als in den korrespondierenden *braunen* Samen. Die höchste Aktivität wiesen die Stadien *schiefrig* und *violett* aus Ecuador auf (55 und 52 pkat g⁻¹ffTM). Die niedrigste Aktivität wurde in den *braunen* Samen aus Tansania gemessen (19 pkat g⁻¹ffTM). In Proben aus Ghana, Indonesien und Tansania wiesen die *violetten* Stadien eine leicht höhere Aktivität der Endoprotease auf als die *schiefrigen* Samen. Bei allen anderen Herkünften wurden die im Mittel höchsten Aktivitäten in *schiefrigen* Samen gemessen.

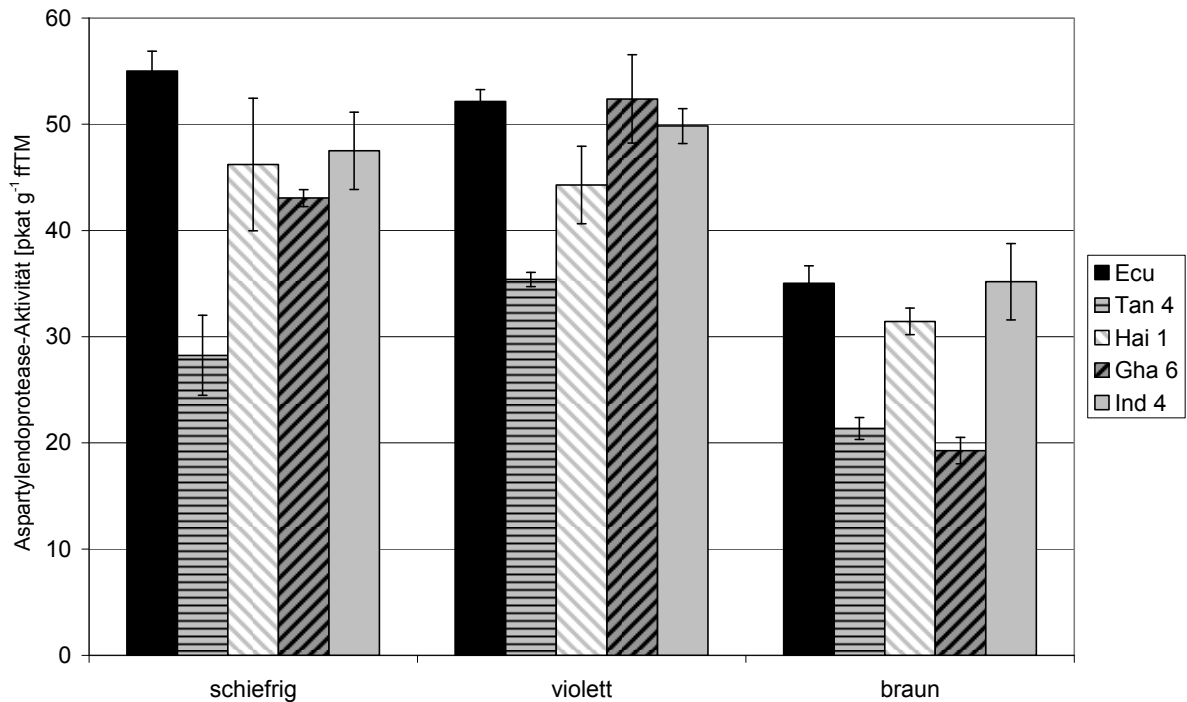


Abb. 119 Aspartylendoprotease-Aktivität der Fermentationsstadien *schiefzig*, *violett* und *braun*. Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichung von 3 Samen der Proben Hai 1, Tan 4, Gha 6 und Ind 4; n = 3. Bei der Probe Ecu wurde die Aktivität in Mischproben von mind. 50 g *schiefziger*, *violetter* bzw. *brauner* Samen gemessen.

4.2.4.2 Aktivität der Polyphenoloxidase

In den Samen der schiefrigen Stadien aus Ecuador, Tansania und Haiti wurden mit 904-1050 nkat g⁻¹ ffTM um etwa das Vierfache höhere Aktivitäten gemessen als in den entsprechenden *violetten* und *braunen*. Der Unterschied zwischen den Stadien *schiefzig* und *violett* war bei den Proben aus Ghana und Indonesien sehr gering (203 ±22 und 233 ±18 nkat g⁻¹ ffTM bei der Ghanaprobe und 291 ±83 und 133 ±16 nkat g⁻¹ ffTM bei der Probe aus Sulawesi). In allen Proben wurde in den *braunen* Stadien die niedrigste Aktivität der Polyphenoloxidase gemessen (zwischen 89 und 115 nkat g⁻¹ ffTM). Eine Ausnahme sind die *violetten* Stadien aus Haiti, deren Aktivität mit im Mittel 390 ±60 nkat g⁻¹ ffTM leicht niedriger war als die der *braunen* mit im Mittel 434 ±52 nkat g⁻¹ ffTM.

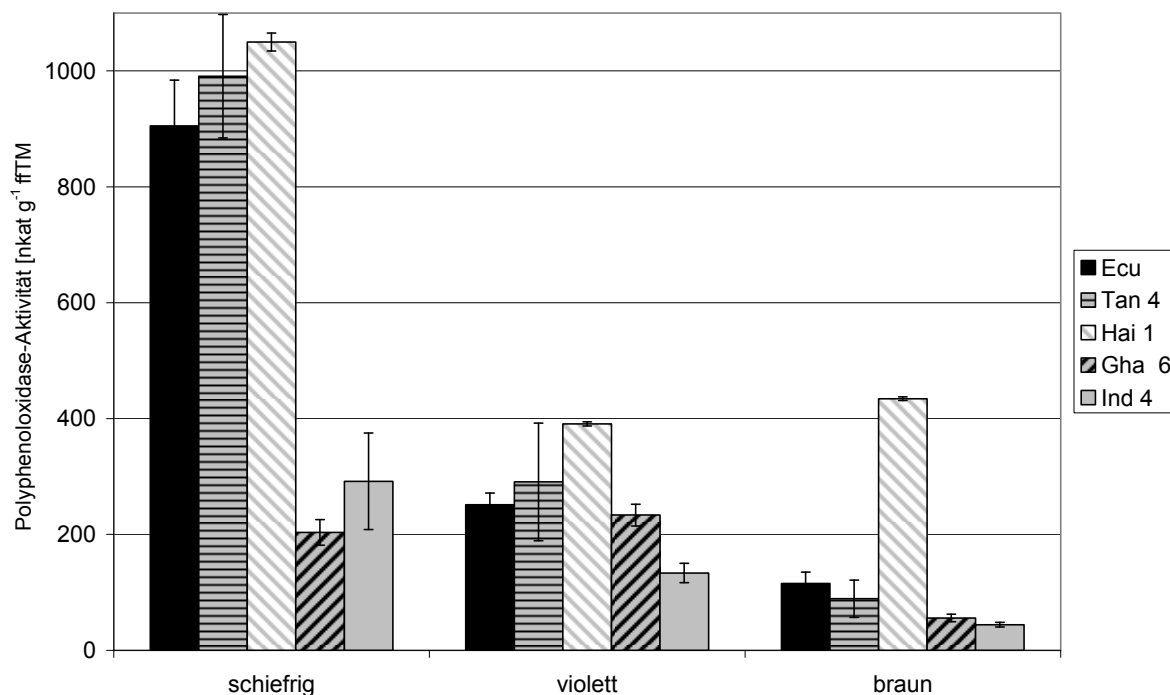


Abb. 120 Polyphenoloxidase-Aktivität der Stadien *schiefzig*, *violett* und *braun*. Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichung von 3 Samen der Proben Hai 1, Tan 4, Gha 6 und Ind 4; n = 3. Bei der Probe Ecu wurde die Aktivität in Mischproben von mind. 50 g *schiefziger*, *violetter* bzw. *brauner* Samen gemessen.

4.2.5 Phenolische Substanzen der Fermentationsstadien

4.2.5.1 Epicatechin und Catechingehalt in Fermentationsstadien

Der Epicatechin- und Catechingehalt wurde in Fermentationsstadien der Probe Hai 1 und Ecu gemessen (Abb. 121). Dabei schwankten die Epicatechingehalte der Haitiprobe zwischen 0,6-30 mg g⁻¹ ffTM und die der Ecuadorproben zwischen 0-24 mg g⁻¹ ffTM: die der Catechingehalte schwankten zwischen 0,0-0,86 mg g⁻¹ ffTM in Haitiprobe und 0,0-0,6 mg g⁻¹ ffTM in Ecuadorproben. Sowohl der Epicatechingehalt als auch der Catechingehalt sind in den *schiefrigen* und *violetten* Stadien der Probe Hai 1 und Ecuador um das 10-30 fache, bzw. 4-6 fache höher als in den *braunen* Stadien (Abb. 121). Entsprechend dem Mischungsverhältnis der verschiedenen Stadien ergaben sich niedrige Epicatechin- und Catechingehalte in den Mischproben.

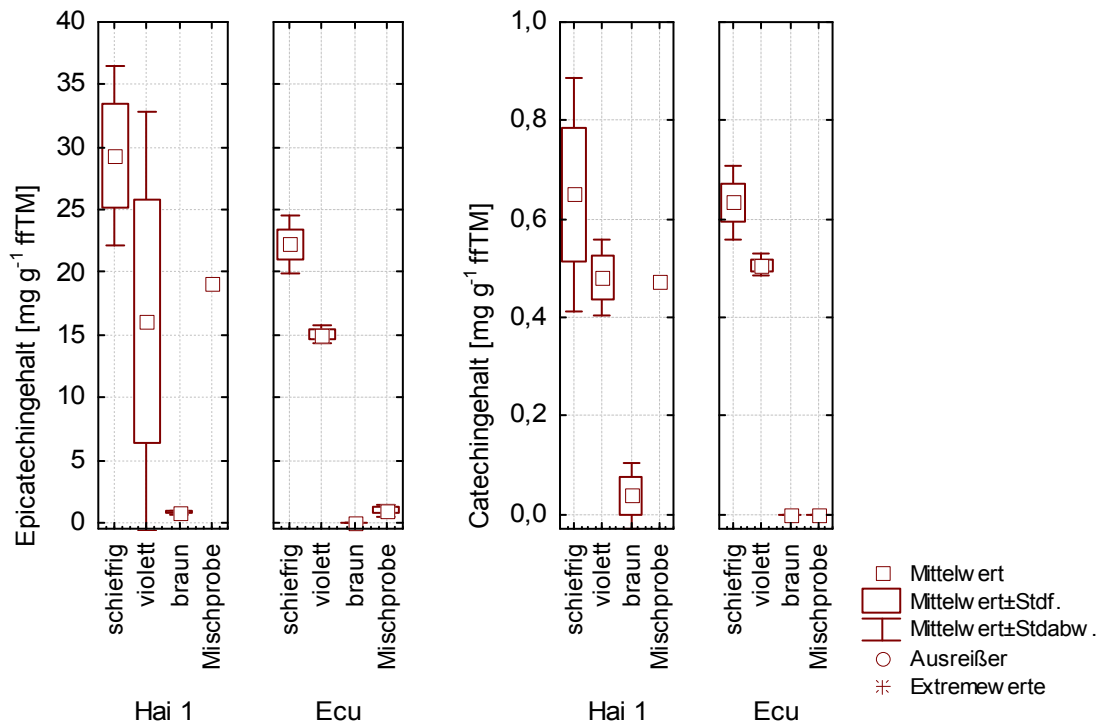


Abb. 121 Epicatechin- und Catechingehalt der Fermentationsstadien *schiefrig*, *schiefrig-violett*, *violett*, *braun* und der Mischprobe der Proben Hai 1 und Ecu
 Hai 1: Werte von je 3 Samen, bzw. Mischprobe aus 300 g Rohkakaomaterial; Ecu: Werte aus Mischproben von mind. 50 g *schiefriger*, *violetter* und *brauner* Samen, bzw. 300 g Mischprobe.

4.2.5.2 Gehalte an Cyanidin-3-arabinsid und Cyanidin-3-galactosid in Fermentationsstadien

Die Analyse des Anthocyans Cyanidin-3-arabinsid der Probe Hai 1 ergab höhere Konzentrationen in den *schiefrigen* (3.990-5.090 $\mu\text{g g}^{-1}$ ffTM) bzw. *violetten* (2.174-2.547 $\mu\text{g g}^{-1}$ ffTM) Stadien als in den *braunen* Stadien (nicht nachweisbar).

Auch die Gehalte an Cyanidin-3-galactosid waren mit 2.289-4.618 $\mu\text{g g}^{-1}$ ffTM in *schiefrigen* und 608-2.428 $\mu\text{g g}^{-1}$ ffTM in *schiefrig-violetten* Stadien höher als in *braunen* Stadien (nicht nachweisbar). *Violette* Stadien enthielten nur Spuren dieses Anthocyans. Die Ergebnisse des Zwischenstadiums *schiefrig-violett* liegen zwischen denen der Stadien *schiefrig* und *violett*.

In den Stadien der Ecuadorprobe wurden keine Anthocyane detektiert.

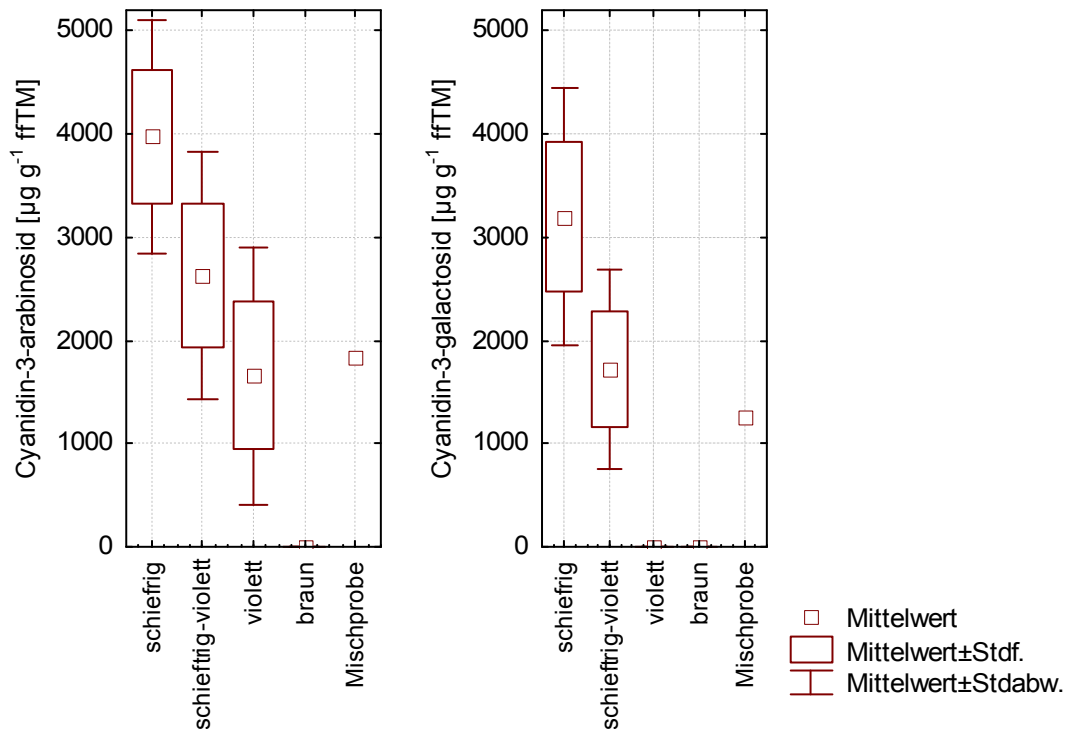


Abb. 122 Anthocyangehalte der Probe Hai 1 (Fermentationsstadien *schiefrig*, *schiefrig-violett*, *violett*, *braun* und der Mischprobe)
 Werte von je 3 Samen bzw. Mischprobe aus 300 g Rohkakaomaterial

4.2.6 Gehalt an freien Aminosäuren (FAA) im Verlauf der Fermentation von Edelkakaο

Bei *weißen* und *hellbraunen* Rohkakaοsamens, wie sie bei der Großgruppe der Criollo-Kakaοs vorkommen, können Fermentationsstadien nicht sicher differenziert werden, da die Samen dieser Genotypen keine oder nur Spuren von Anthocyanen enthalten. Fermentationsspezifische Veränderungen können also, anders als bei anthocyanhaltigen Kakaοsamens, vor allem biochemisch nicht aber visuell nachgewiesen werden.

Die FAA-Gehalte von Rohkakaοsamens von zwei verschiedenen Populationen aus der Großgruppe der Criollo-Kakaοs nehmen in allen drei Versuchen im Verlauf der Fermentation zu (Abb. 123). Diese Zunahme ist vor allem auf eine Gehaltszunahme der hydrophob reagierenden FAA zurückzuführen (in der Grafik rot markierte FAA). Die FAA-Gehalte aus der Gruppe der „sauren“ Aminosäuren Asparaginsäure, Asparagin und Glutamin sinken dagegen bereits nach 24 Stunden Fermentation auf niedrigere Werte. In den nicht fermentierten Samen beider Genotypen wurden im Mittel höhere Gehalte an sauren Aminosäuren (schwarz-grauweiße Farben) festgestellt als in fermentierten. Die GABA-Werte waren bei einem überwiegenden Teil der Proben in den 24-48 Stunden fermentierten Samen am höchsten.

Die FAA-Gehalte der Samen der zu unterschiedlichen Zeitpunkten durchgeführten „Criollo“-Fermentationen ähneln sich im Muster sehr und unterscheiden sich von denen der „Porcelana“-Samens. Die „Criollo“-Samens enthielten zu jedem Zeitpunkt der Fermentation niedrigere FAA-Gehalte, als die entsprechend fermentierten „Porcelana“-Samens. Dieser Un-

terschied nahm im Verlauf der Fermentation zu, d.h. bei den „Porcelana“-Samen wurden deutlich größere Gehaltszunahmen der FAA-Gehalte im Verlauf der Fermentation beobachtet als bei den Fermentationen der „Criollo“-Samen. Die stärkste Erhöhung der FAA-Gehalte erfolgte zwischen 48 und 72 Stunden fermentierten „Porcelana“-Samen. Entsprechend war der Unterschied zwischen den beiden Genotypen bei 48 Stunden und 72 Stunden fermentierten Samen am deutlichsten.

Es gab bei beiden Genotypen eine samenspezifische Schwankung der FAA-Gehalte.

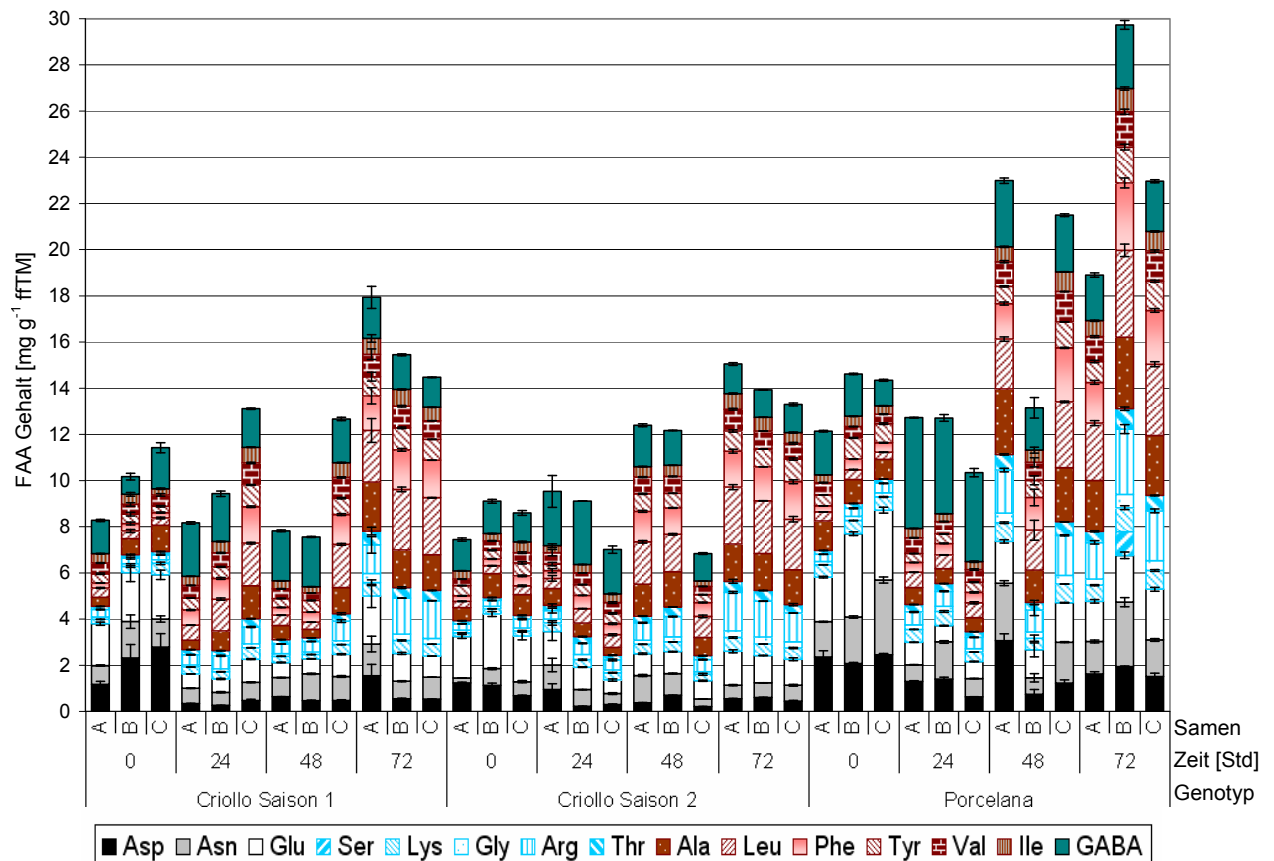


Abb. 123 Veränderung der Gehalte an freien Aminosäuren während der Fermentation von Edelkakao (Criollo- und Porcelana-Kakao)
 Dargestellt sind die Mittelwerte der Gehalte an freien Aminosäuren von je drei getrockneten Samen (Same A, B und C) im Verlauf der Fermentation (0 bis 72 Std.). Farbgebung: Gruppe der „sauren“ FAA schwarz-grau-weiße Farben, Gruppe der „anderen“ FAA blaue Farben, Gruppe der „hydrophoben“ FAA rote Farben, GABA-Wert grün. Fehlerbalken stellen die Standardabweichungen dar.

4.2.7 Gehalt an freien Aminosäuren in unfermentierten und 7 Tage fermentierten, getrockneten Rohkakaosamen unterschiedlicher Genotypen

Die FAA-Gesamtgehalte schwanken bei unfermentierten, getrockneten Rohkakaosamen unterschiedlicher Genotypen zwischen 5 und 12 mg g⁻¹ fTMM, bei 7 Tage fermentierten Rohkakaosamen zwischen 13 und 29 mg g⁻¹ fTMM (Abb. 124). Die Gehaltszunahme beschränkt sich fast nur auf die Gruppe der „hydrophoben“ FAA und die der „anderen“ FAA. Die Asparaginsäuregehalte sind in allen unfermentierten Proben niedriger als in den fermentierten, während es sich bei den Glutamingehalten umgekehrt verhält.

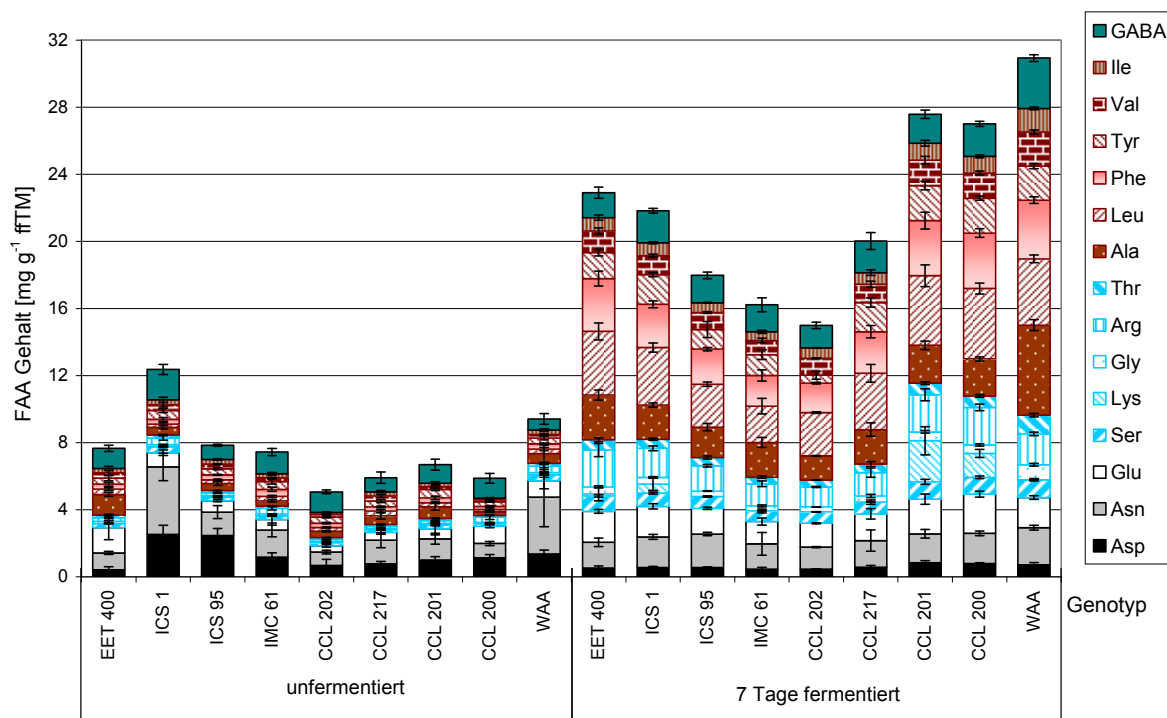


Abb. 124 Gehalte an freien Aminosäuren in nicht fermentierten und sieben Tage fermentierten Rohkakaos unterschiedlicher Genotypen
 Dargestellt sind die Mittelwerte von je drei getrockneten Samen. Farbgebung: Gruppe der „sauren“ FAA schwarz-grau-weiße Farben, Gruppe der „anderen“ FAA blaue Farben, Gruppe der „hydrophoben“ FAA rote Farben, GABA-Wert grün. Fehlerbalken stellen die Standardabweichungen dar.

4.2.8 Zusammenfassung

Die Fermentationsstadien *schiefzig*, *violett* und *braun* unterscheiden sich teilweise stark hinsichtlich der Parameter pH-Wert, Aktivität der Enzyme Aspartylendoprotease und Polyphenoloxidase, Epicatechin- und Catechingehalt sowie der Gehalte an Cyanidin-3-arabinsid und Cyanidin-3-galactosid. Dabei ist der Unterschied der *schiefrigen* und *violetten* Stadien zum *braunen* Stadium oftmals größer als die Unterschiede zwischen den Herkünften. Eine Ausnahme bildet die Aktivität der Polyphenoloxidase der Proben Gha 6 und Ind 4, deren *schiefrige* Stadien ähnlich geringe Werte aufwiesen wie die entsprechenden *violetten* und *braunen* Stadien.

Die Ergebnisse der im Handel für die Qualitätsprüfung verwendeten Mischprobe stellen einen Wert zwischen den beiden Stadien dar, die am häufigsten in der entsprechenden Probe vorkamen.

Die enzymatischen Analysen ergaben, dass selbst in 5 Jahre gelagertem Rohkakaos noch Restaktivitäten nachweisbar waren. Diese sind vergleichbar mit Rohkakaos, der nur ein Jahr gelagert wurde.

Im Verlauf einer Fermentation ändert sich der FAA-Gehalt und die Zusammensetzung der FAA. Zwischen den Genotyppopulationen „Criollo“ und „Porcelana“ wurden Unterschiede in den Anfangsgehalten und bei der Zunahme der FAA-Gehalte im Verlauf der Fermentation festgestellt. Außerdem wurden teilweise große Unterschiede zwischen gleich behandelten Samen festgestellt.

Beim Vergleich von unfermentiertem und fermentiertem Rohkakao unterschiedlicher Genotypen wurden zum Teil erhebliche genotypspezifische Unterschiede sichtbar.

Da das Ursprungsland (Herkunft) für die Fermentationsstadien einer Rohkakaoprobe dasselbe ist, müssen folglich Unterschiede zwischen den Stadien durch andere Einflussgrößen, wie z.B. die Art und Weise der Nacherntebehandlung, bedingt sein. Sofern die Ergebnisse auch andere Handelsproben übertragbar sind, und es gibt keine Gründe die dagegen sprechen, stellt jede Handelsprobe, die unterschiedliche Fermentationsstadien aufweist, ein sehr heterogenes Material dar.

4.3 Inkubation unter fermentationsähnlichen Bedingungen und Auswirkung der Trocknung

4.3.1 Vorbemerkung

Im vorigen Kapitel wurde gezeigt, dass sich Fermentationsstadien einer Rohkakaoprobe in ihren biochemischen Eigenschaften unterscheiden. Damit stellen die verschiedenen Fermentationsstadien innerhalb einer Handelspartie jeweils eine eigene Ressource für bestimmte biochemische Merkmale wie z.B. den phenolischen Substanzen dar. Um diese Ressource nutzen zu können, müssten die Stadien reproduzierbar hergestellt werden können.

Inwieweit dies z.B. über standardisierte Fermentationsverfahren möglich ist, und wie stark der Einfluss der Nachernteverfahren auf die Ausprägung bestimmter Parameter ist, wird im Folgenden untersucht. Grundlage hierfür bildet ein Versuchsaufbau, bei dem frische Kakao-samen unter kontrollierten Laborbedingungen einer fermentationsähnlichen Inkubation unterzogen und anschließend getrocknet wurden.

Um den möglichen Einfluss unterschiedlicher Genotypen zu minimieren, wurden für die Inkubationen jeweils nur das Material eines Genotypen (IMC 67 und Gu 277G T4, aus offener Bestäubung) verwendet.

Dem Versuch liegen die folgenden Fragen zu Grunde:

- Können die verschiedenen Fermentationsstadien *schiefbrig*, *violett* und *braun* unter den gewählten Bedingungen gezielt reproduziert werden?
- Wie stark unterscheiden sich die unterschiedlich fermentierten Proben eines Genotypes?
- Wie stark ist der Einfluss der Trocknung?
- Wird über die Analyse der Fermentationsstadien auch der Einfluss der Nachernteverfahren Fermentation und Trocknung einschätzbar?

Die in dem Kapitel 4.1.7 unter „Besonderheit der Fermentationsstadien mit mehreren Farbzonen“ dargestellten Ergebnisse weisen, unter Ausnahme der Zone unmittelbar um die

Radikula, auf eine Barrierefunktion der Testa im Verlauf des Ansäuerungsprozesses der Fermentation hin. Folglich stellt sich außerdem die Frage,

- Welchen Einfluss die hat Testa (inkl. anhaftender Pulpa) bei der Nacherntebehandlung?

Um zu untersuchen, ob sich die Testa (inkl. anhaftender Pulpareste) auf das Endergebnis der Nacherntebehandlungen (insbesondere Ansäuerung, Temperatur, Gasaustausch und Trocknung) auswirkt, wurden jeweils zwei unterschiedliche Ansätze der Inkubationsversuche durchgeführt. Bei einem Teil der Samen wurde die Testa während der Versuche entfernt (-T) und bei einem anderen Teil der Samen wurde mit Testa (+T) inkubiert. Von beiden Ansätzen wurde nach der Inkubation ein Teil eingefroren und ein zweiter getrocknet. Diese Aufarbeitung wurde mit den Genotypen IMC 67 und GU 277G T4 aus 3 Lieferungen durchgeführt. Bei zwei der Lieferungen konnten aufgrund von Transportschäden (Temperaturschäden) einige exogene Einflüsse nicht ausgeschlossen werden, die sich auf die Gesamtheit der Ergebnisse auswirkten (siehe Kapitel Material und Methoden 3.2.3.3). Deshalb wird folgend das Ergebnis einer ideal abgelaufenen Lieferung und Untersuchung dargestellt (Versuche A mit Testa (+T) und B ohne Testa (-T)). Zusätzlich wird das Ergebnis einer der anderen Lieferungen (Versuche C mit Testa (+T) und D ohne Testa (-T)) dargestellt, um zu demonstrieren, dass sie grundsätzlich gleich verlaufen sind, teilweise aber qualitative Abweichungen aufwiesen. Die dargestellten Versuche wurden alle mit reifen Samen des Klones IMC 67 durchgeführt. Die Bedingungen, unter denen die Inkubationsversuche durchgeführt wurden, können der Tab. 17 entnommen werden.

Tab. 17 Versuchsbedingungen der Inkubationsversuche

Dauer [Stunden]	0-24	24-48	48-120
Temperatur [°C]	30	40	50
pH-Wert des Mediums	4,5		5,5
Begasung / Belüftung	Stickstoff		Raumluft
Versuch A	mit Testa (+T)		
Versuch C (temperaturgeschädigt)			
Versuch B	ohne Testa (-T)		
Versuch D (temperaturgeschädigt)			

4.3.2 Veränderung des pH-Wertes der Samen im Verlauf der Inkubation und nach anschließender Trocknung

pH-Werte der Samen ohne Trocknung

Die pH-Werte der inkubierten Samen lagen zwischen pH 5,0-6,4 (Abb. 125). Wurden die Samen ohne Testa inkubiert, sank der pH-Wert innerhalb von 48 Stunden auf pH-Wert 5,3 (Versuch B) bzw. 5,0 (Versuch D), während zu diesem Zeitpunkt in +T inkubierten Samen noch Werte größer pH 5,7 vorlagen. Die pH-Werte der Inkubationsproben, die mit Testa

inkubiert wurden, sanken im Verlauf der Inkubation langsamer ab als die pH-Werte der ohne Testa inkubierten Samen.

Nachdem der pH-Wert des Mediums nach 48 Stunden von pH 4,5 auf 5,5 angehoben worden war, stieg auch der pH-Wert der –T-Samen. Bereits 24 Stunden später und für den Rest der Inkubation lag er bei pH-Wert 5,1-5,4 und damit fast auf dem Niveau des Inkubationsmediums mit pH 5,5 (Abb. 125). Auch die +T-Samen wiesen nach 72 Stunden Inkubation mit dem Medium vergleichbare pH-Werte auf.

Die Temperaturschädigung der Samen der Versuche C und D hatte nur bei den Samen, die ohne Testa inkubiert wurden, einen Einfluss. Diese Samen nahmen schneller den sie umgebenden pH-Wert an als die unbeschädigten Samen. Bei den mit der Testa inkubierten Samen wurde kein Unterschied zwischen temperaturgeschädigten und nicht geschädigten Samen festgestellt.

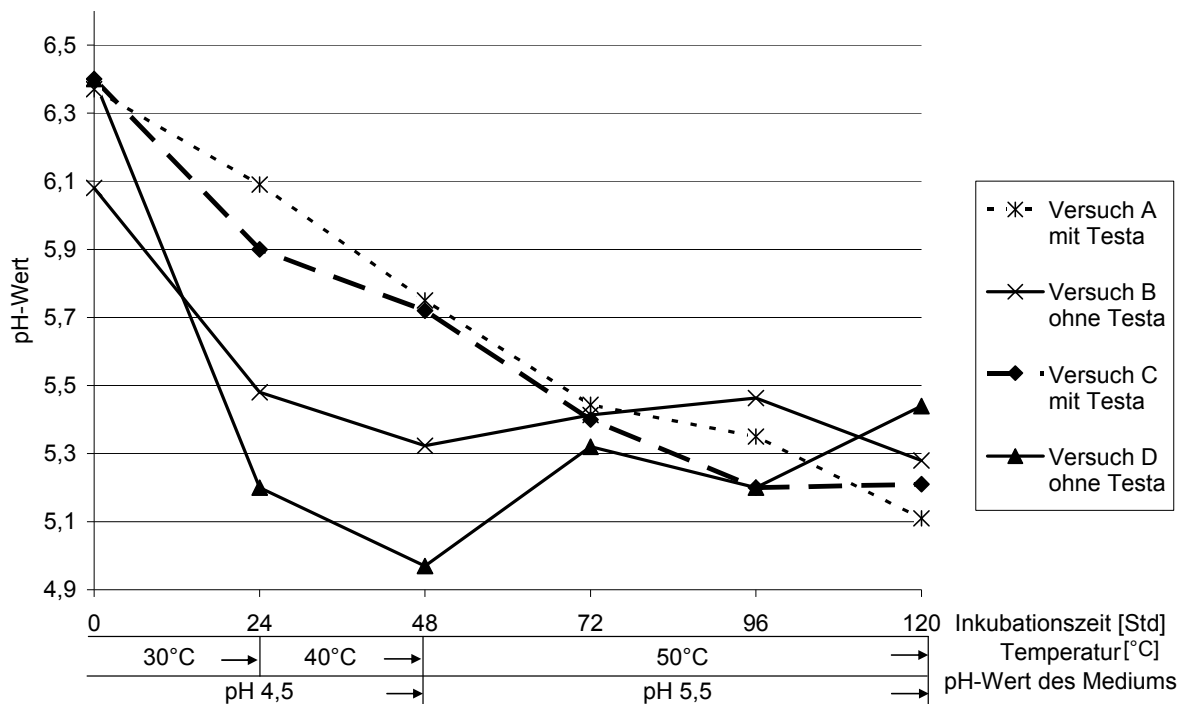


Abb. 125 pH-Wert der Kotyledonen nach der Inkubation
 Der pH-Wert wurde an je 3 Samen nach der Inkubation gemessen. Dabei wichen die pH-Werte der Parallelmessungen nur sehr wenig von einander ab ($\pm 0,05$ pH-Einheiten). Die Inkubation erfolgte bei einer Essigsäurekonzentration von 200 mmol L^{-1} . Der pH-Wert wurde in den ersten 48 Stunden auf pH 4,5 und folgend auf pH 5,5 eingestellt. Inkubiert wurde die ersten 24 Stunden bei einer Temperatur von 30°C , die folgenden 24 Stunden bei 40°C und die verbleibende Zeit bei 50°C .

pH-Werte der Samen nach Trocknung

Die durch die Trocknung der Samen bedingte Veränderung des pH-Wertes war gering.

Mit Testa inkubierte Samen:

Insgesamt wurden die pH-Werte der Samen durch die Trocknung leicht erniedrigt. Ein deutlicher Einfluss der Trocknung wurde aber nur in Samen, die 48 Stunden inkubiert wurden

festgestellt. Im Gegensatz zu nicht getrockneten +T Samen wiesen diese mit pH-Wert 5,5 einen deutlich niedrigeren Wert auf. Bezogen auf den Einfluss der Trocknung auf den pH-Wert der Samen wurden, zwischen den Versuchen A (+T) und C (+T), keine Unterschiede festgestellt (Abb. 126).

Ohne Testa inkubierte Samen

Der Trocknungsprozess hatte nur einen sehr geringen Einfluss auf die pH-Werte von Samen, die ohne Testa inkubiert wurden. Die Samen des Versuches B (-T, nicht temperaturvorgeschiedigt) wiesen nach Trocknung die gleichen pH-Werte auf, als die Samen des Versuches D (-T, temperaturvorgeschiedigt). Dabei stiegen die pH-Werte der Samen des Versuches D durch die Trocknung leicht an, während diejenigen des Versuches B leicht sanken (Abb. 126).

Nach 72 Stunden Inkubation wiesen ohne Testa inkubierte Samen nach der Trocknung leicht höhere pH-Werte auf, als mit Testa inkubierte.

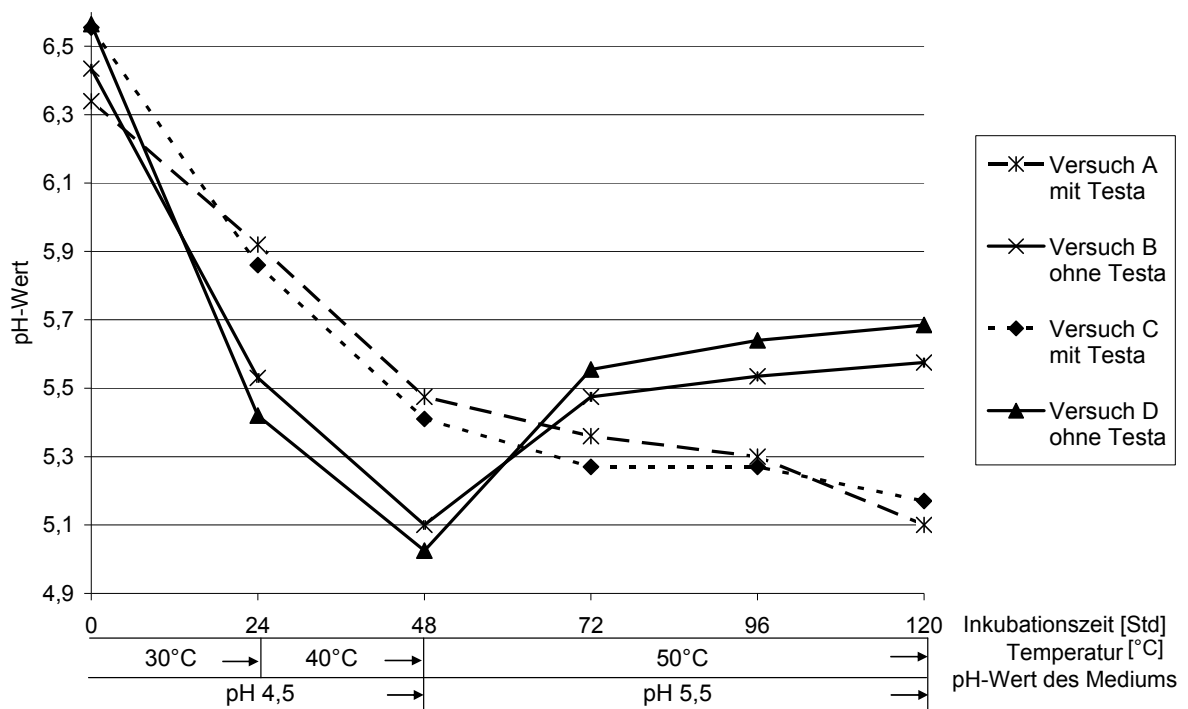


Abb. 126 pH-Wert der Kotyledonen nach Trocknung der inkubierten Samen
 Der pH-Wert wurde an je 3 Samen nach Trocknung gemessen, wobei die pH-Werte der Parallelmessungen nur sehr wenig voneinander abwichen ($\pm 0,05$ pH-Einheiten). Die Inkubation erfolgte bei einer Essigsäurekonzentration von 200 mmol L^{-1} . Der pH-Wert wurde in den ersten 48 Stunden auf pH 4,5 und folgend auf pH 5,5 eingestellt. Inkubiert wurde die ersten 24 Stunden bei einer Temperatur von 30°C , die folgenden 24 Stunden bei 40°C und die verbleibende Zeit bei 50°C .

4.3.3 Schnitt-Bilder getrockneter Inkubationsproben

In Abb. 127 sind die Schnittbilder der getrockneten Inkubationsproben der Versuche A und B dargestellt. Das Ergebnis der artifiziellen Inkubation sind *schiefrige, violette* und *braune* Fermentationsstadien.

Mit Testa inkubierte Samen

Getrocknete Samen, die nicht oder nur 24 Stunden inkubiert worden waren, erschienen im Schnitt-Bild schiefrig. Erst nach 48 Stunden Inkubation und anschließender Trocknung wiesen die Samen eine tief-violette Farbe auf, wobei zwei Samen kleine bräunliche Stellen in der Mitte des Samens hatten. Weitere 24 Stunden später wechselte die Farbe von tief violett in rot violett. Ein Same wies einen eher bräunlichen Farbton auf. Nach 72 stündiger Inkubation erschienen nur noch 2 von 5 Samen violett, bei den anderen drei Samen waren nur die Schnittflächen der Kotyledonen violett, während die Epidermisflächen und der innere Teil der Kotyledonen braun gefärbt war.

Ohne Testa inkubierte Samen

Samen, die direkt nach Entfernung der Testa getrocknet wurden, erschienen im Schnitt-Bild schiefrig. Bereits nach 24 Stunden Inkubation wechselte die Farbe in violette Töne, wobei ein großer Teil der Kotyledonen bereits dunkel verbräunt war. Dauerte die Inkubation 48 Stunden waren nur noch sehr wenige violette Anschnittflächen erkennbar, der Rest der Schnittflächen erschien braun. Alle länger inkubierten Samen erschienen durchgängig braun.

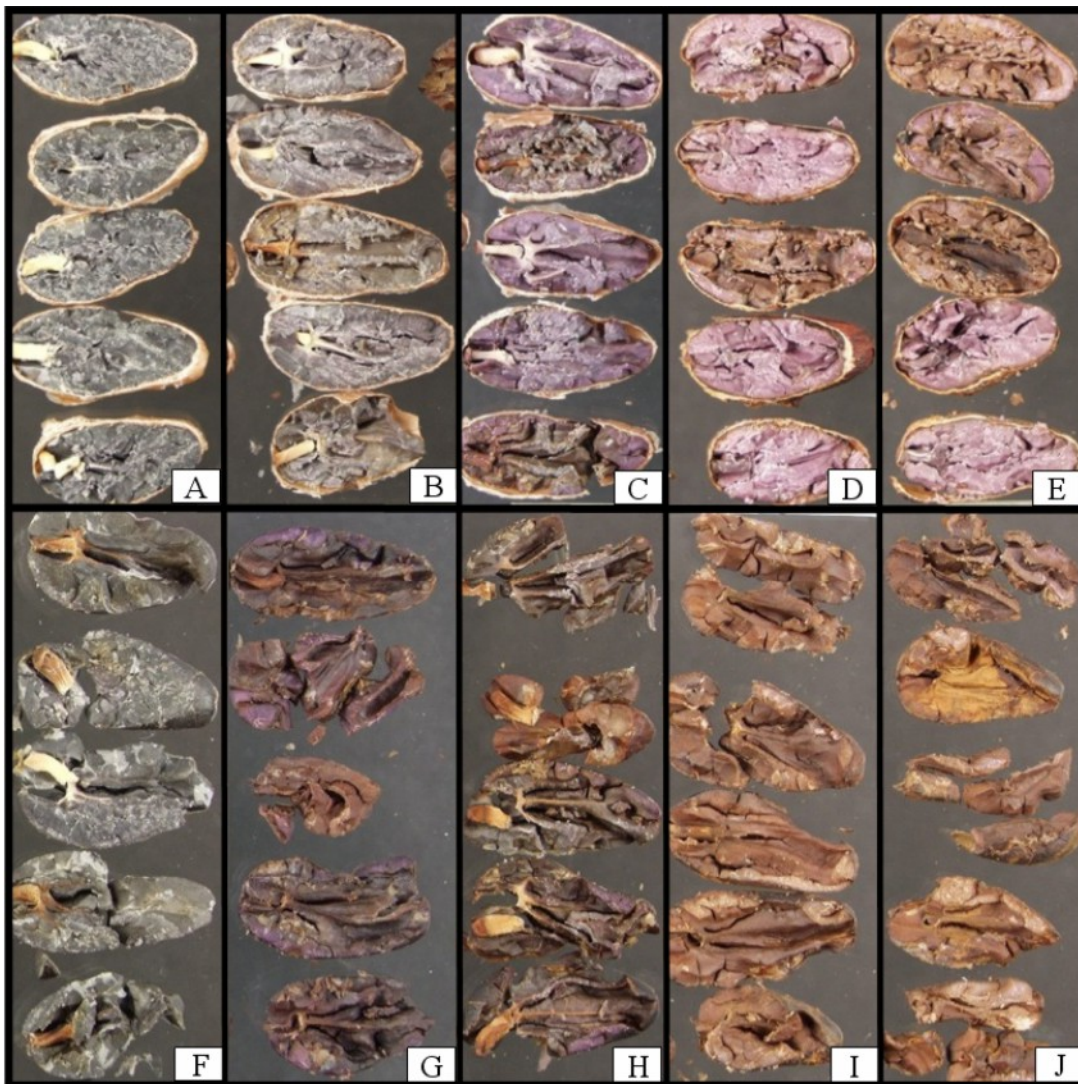


Abb. 127 Schnittbilder getrockneter Samen der Inkubationsversuche A (-T) und B (+T)
 Bilder A-E: 0, 24, 48, 78 und 96 Stunden mit Testa inkubierte und anschließend getrocknete Samen aus Versuch A; Bilder F-J: 0, 24, 48, 78 und 96 Stunden ohne Testa inkubierte und anschließend getrocknete Samen aus Versuch B.

4.3.4 Veränderung der FAA-Gehalte im Verlauf der Inkubation und anschließender Trocknung

Die Veränderung der FAA-Gehalte der Inkubationsproben sind in Abb. 128 (Versuche A und B) und Abb. 129 (Versuche C und D) dargestellt.

Einfluss der Testa

Die FAA-Gehalte der Samen, die mit und ohne Testa inkubiert wurden, unterschieden sich deutlich voneinander. Im Verlauf der Inkubation von +T inkubierten Samen nahm der FAA-Gehalt von ursprünglich $8 \text{ mg g}^{-1} \text{ ffTM}$ auf $20 \text{ mg g}^{-1} \text{ ffTM}$ stark zu. Dabei nahmen insbesondere die Gehalte an „anderen“ und „hydrophoben“ FAA zu, während FAA-Gehalte aus der Gruppe der „sauren“ FAA abnahmen.

Die stärkste Zunahme wurde in dem Zeitraum zwischen 24 und 72 Stunden nach Beginn der Inkubation beobachtet. Die FAA-Gehalte der 96 und 120 Stunden inkubierten Samen lagen nur leicht unterhalb des Maximalwertes von 72 Stunden inkubierten Samen.

Im Gegensatz zu +T-Samen wurde die größte Zunahme der –T-Samen bereits in den ersten 24 Stunden der Inkubation festgestellt. Nach 72 Stunden Inkubation nahm der Gehalt jedoch stark ab und sie enthielten im Vergleich zu +T-Samen wesentlich niedrigere FAA-Gehalte. Auch die länger inkubierten Samen wiesen niedrigere FAA-Gehalte auf.

Erst nach Erhöhung der Temperatur auf 50°C unterschieden sich die FAA-Gehalte von –T-Samen und +T-Samen deutlich voneinander. Die Zunahme der FAA-Gehalte der +T-Samen korreliert zeitlich mit der Zunahme der Temperatur (siehe Tab. 17).

Einfluss der Trocknung

Die Trocknung hatte insgesamt einen geringen Einfluss auf den FAA-Gesamtgehalt und die FAA-Gehalte einzelner FAA. Der Trocknungsprozeß verursachte hauptsächlich Unterschiede zwischen den 24 und 48 Stunden inkubierten Samen. Bei länger als 72 Stunden inkubierten Samen wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen nicht getrockneten und getrockneten Samen festgestellt.

Nicht inkubierte sondern nur getrocknete Samen wiesen im Vergleich zu frischen Samen höhere GABA-Gehalte und geringere Asparaginsäure-Gehalte auf.

Unterschiede zwischen den Versuchen

Im Vergleich zu den unbeschädigten Samen wiesen temperaturgeschädigte +T-Samen fast keine Unterschiede bezüglich des FAA-Gesamtgehaltes auf. Allerdings unterschieden sich die Gehalte einzelner FAA.

Insbesondere die GABA-Gehalte der temperaturgeschädigten Samen waren in den nicht getrockneten und 0, 24 oder 48 Stunden inkubierten Samen höher.

Anders sieht es bei den –T-Samen aus. Hier machte sich die Vorschädigung in deutlich geringeren FAA-Gehalten bemerkbar.

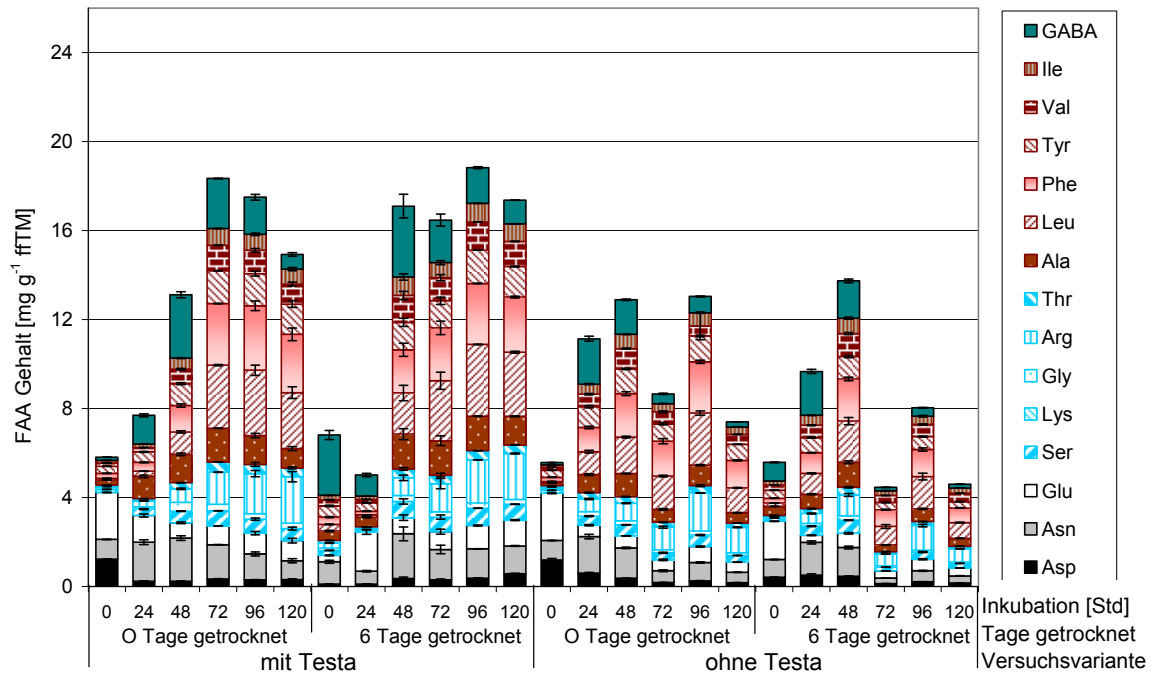


Abb. 128 FAA-Gehalte getrockneter und nicht getrockneter Samen der Inkubationsversuche A (+T) und B (-T)

Als Summe dargestellt sind die Ergebnisse der FAA-Gehalte. Farbgebung: Gruppe der „sauren“ FAA Asp, Asn, Glu: schwarz-grau-weiße Farben; Gruppe der „anderen“ FAA Ser, Gly, Arg, Thr: blaue Farben; Gruppe der der „hydrophoben“ FAA Ala, Leu, Phe, Tyr, Val, Ile: rote Farben, GABA grün. Die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung dar.

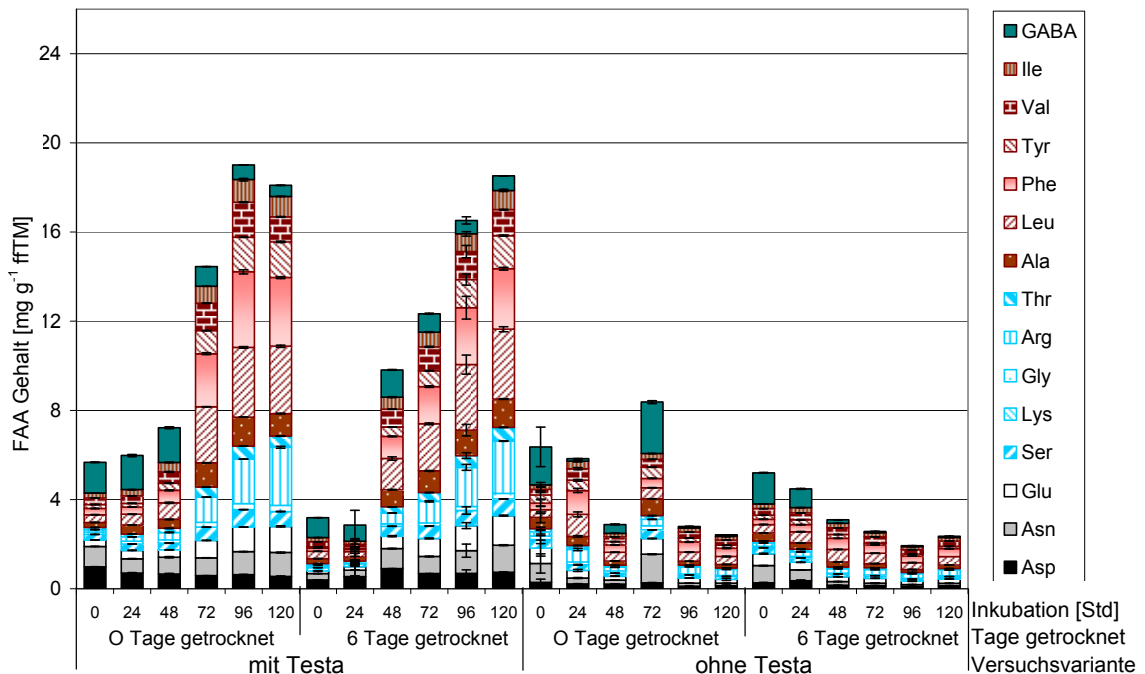


Abb. 129 FAA-Gehalte getrockneter und nicht getrockneter Samen der Inkubationsversuche C (+T) und D (-T)

Als Summe dargestellt sind die Ergebnisse der FAA-Gehalte. Farbgebung: Gruppe der „sauren“ FAA Asp, Asn, Glu: schwarz-grau-weiße Farben; Gruppe der „anderen“ FAA Ser, Gly, Arg, Thr: blaue Farben; Gruppe der der „hydrophoben“ FAA Ala, Leu, Phe, Tyr, Val, Ile: rote Farben, GABA grün. Die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung dar.

4.3.5 Veränderung der Epicatechin-, Catechin- und Coffeingehalte im Verlauf der Inkubation und anschließender Trocknung

Die Epicatechingehalte nahmen im Verlauf der Inkubation stark ab (Abb. 130). Innerhalb der 5 tägigen Inkubation sank der Epicatechingehalt von ursprünglich 36 mg g⁻¹ ffTM auf unter 12 mg g⁻¹ ffTM. Die stärkste Abnahme fand in den ersten 72 Stunden statt, danach blieb der Epicatechingehalt konstant.

Der Einfluss der Testa ist auch bei den Epicatechingehalten deutlich, jedoch nicht so stark ausgeprägt wie bei den Ergebnissen der FAA-Gehalte. Wurden die Samen ohne Testa inkubiert, sank der Epicatechingehalt früher und stärker ab. Bereits nach 72 Stunden lag der Epicatechingehalt bei 8 mg g⁻¹ ffTM.

Einfluss der Trocknung

In getrockneten inkubierten Samen wurden generell niedrigere Epicatechingehalte gemessen als in nicht getrockneten.

Anders als bei nicht getrockneten Samen, sank der Epicatechingehalt auch bei Samen, die länger als 72 Stunden inkubiert wurden, weiter ab.

Noch deutlicher waren die Unterschiede zwischen den getrockneten Samen, die mit bzw. ohne Testa inkubiert wurden: getrocknete -T-Samen wiesen deutlich niedrigere Epicatechingehalte auf als getrocknete +T-Samen. Ohne Testa inkubierte Samen wiesen bereits nach 72 Stunden fast kein Epicatechin mehr auf.

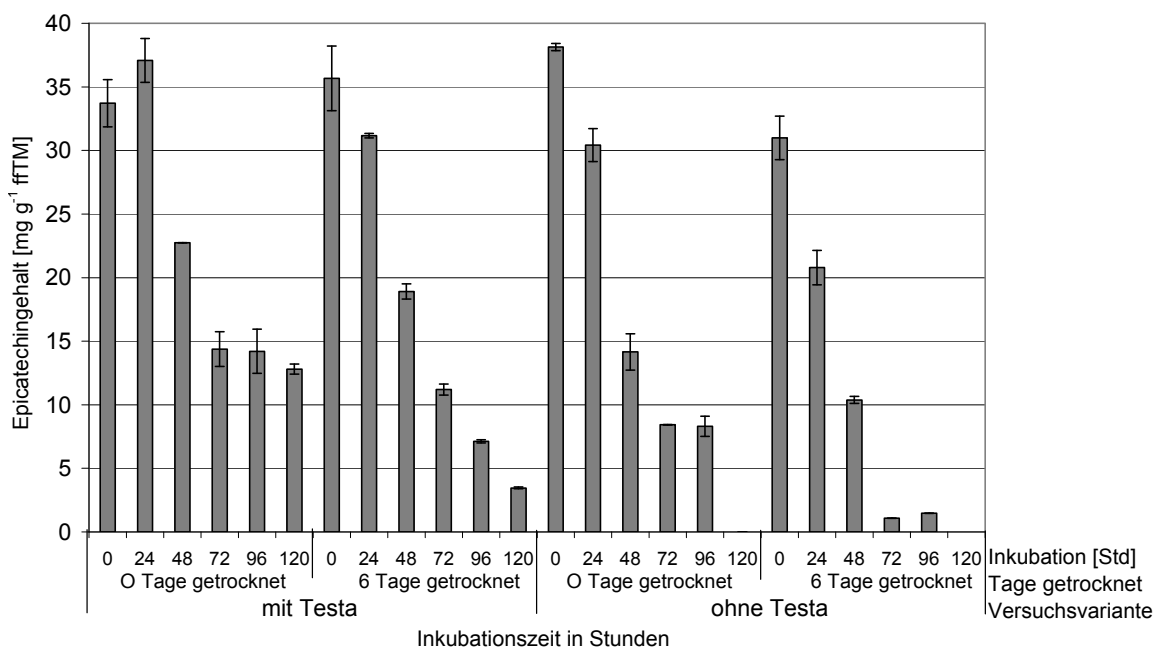


Abb. 130 Epicatechingehalte getrockneter und nicht getrockneter Samen der Inkubationsversuche A (+T) und B (-T)

Vergleichbar mit den Epicatechingehalten sanken auch die Catechingehalte im Verlauf der Inkubation ab (Abb. 131). Dabei nahmen die Catechingehalte bei inkubierten und getrockneten Proben schneller in –T-Samen ab, als in +T-Samen. Auffällig ist, dass es einen großen Unterschied zwischen den beiden nicht getrockneten und nicht inkubierten Proben der Versuche A und B gibt. Da es sich bei diesen Proben um Parallelen handelt, muss davon ausgegangen werden, dass diese Schwankung auf Unterschiede zwischen verschiedenen Samen zurückzuführen ist.

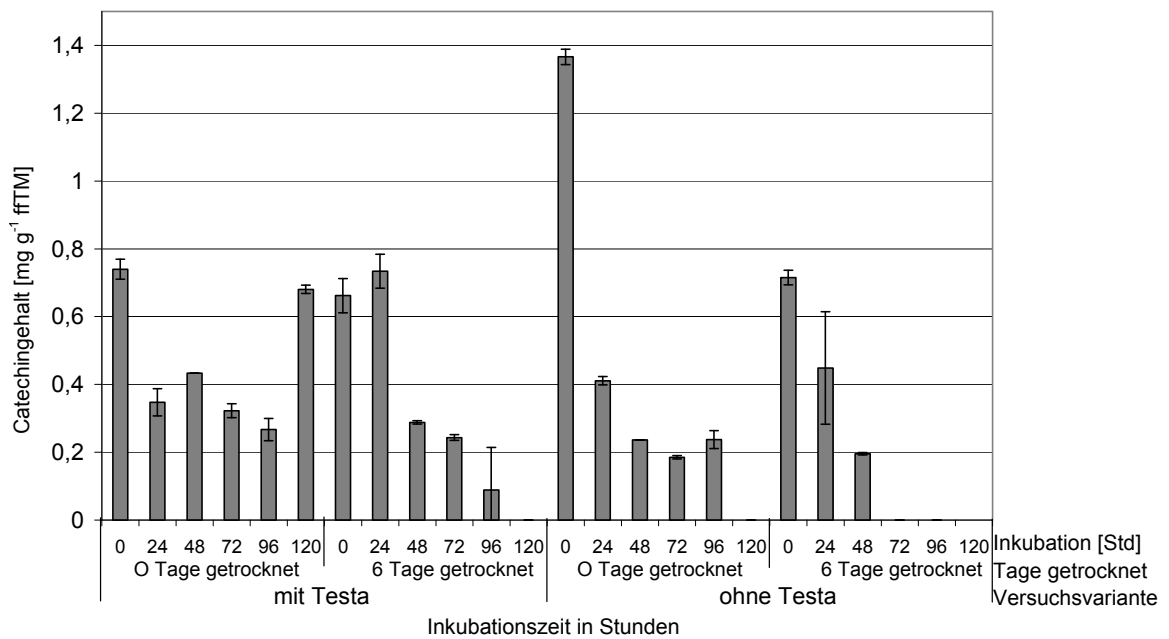


Abb. 131 Catechingehalte getrockneter und nicht getrockneter Samen der Inkubationsversuche A (+T) und B (-T)
n = 2, Fehlerbalken stellen die Standardabweichung dar.

In den Inkubationsversuchen C und D wurden nur sehr geringe Gehalte an Epicatechin und Catechin gemessen (Daten nicht gezeigt).

4.3.6 Veränderung der Cyanidin-3-arabinosid- und Cyanidin-3-galactosid-Gehalte in getrockneten Inkubationsproben im Verlauf der Inkubation

In Abb. 132 sind die Cyanidin-3-arabinosid- und Cyanidin-3-galactosid-Gehalte von getrockneten Inkubationsproben der Versuche A und B dargestellt. Die Anthocyangehalte von getrockneten Inkubationsproben nahmen generell mit fortlaufender Inkubation ab. Eine Ausnahme bildeten nicht inkubierte +T-Samen. Diese wiesen im Unterschied zu getrockneten –T-Samen niedrigere Anthocyangehalte auf.

Bereits 48 Stunden nach Beginn der Inkubation wurde in den Proben kein Cyanidin-3-galactosid mehr nachgewiesen, nach 72 Stunden wurde auch kein Cyanidin-3-arabinosid mehr detektiert.

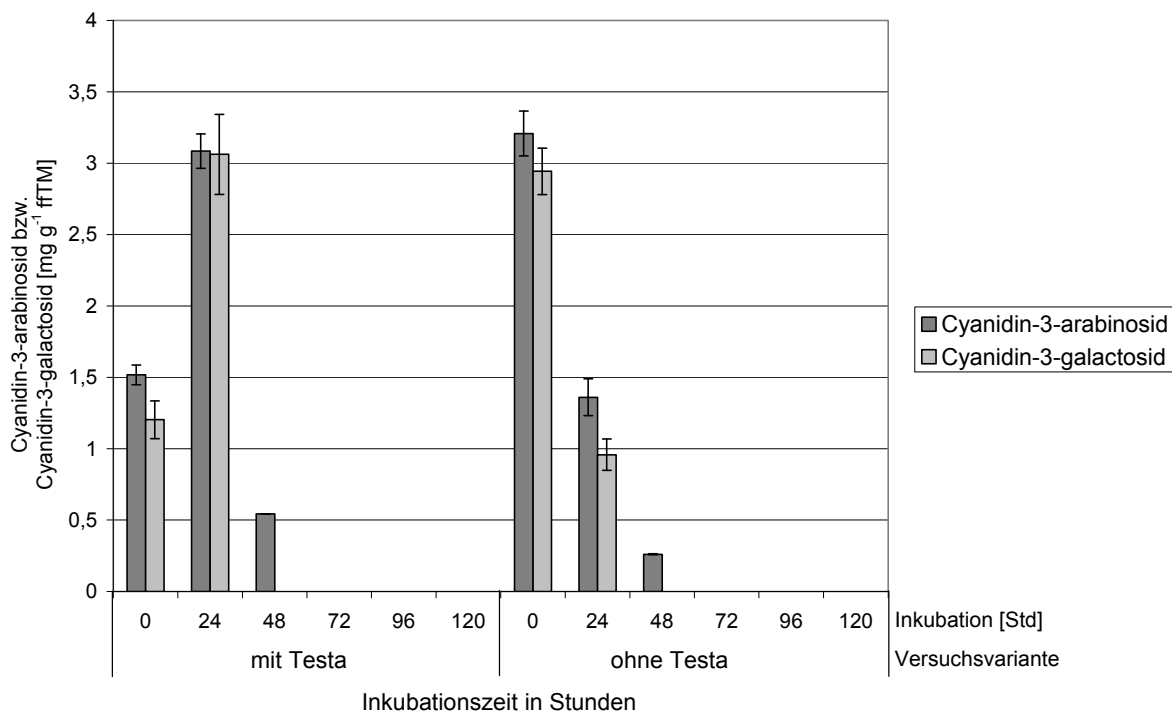


Abb. 132 Gehalte an Cyanidin-3-arabinosid und Cyanidin-3-galactosid getrockneter Samen der Inkubationsversuche A (+T) und B (-T)
n = 4, Fehlerbalken stellen die Standardabweichung dar.

4.3.7 Veränderung der Theobromin- und Coffeingehalte im Verlauf der Inkubation und anschließender Trocknung

Die Samen verloren im Verlauf der Inkubation ca. 50% ihres Ausgangsgehaltes an Coffein und Theobromin (Abb. 133, Abb. 134).

Einfluss der Trocknung

Die Trocknung der Samen hatte nur einen geringen Einfluss auf die Gehalte an Theobromin und Coffein. Das gleiche Verhalten der Coffein- und Theobromingehalte im Verlauf der Inkubation und der anschließenden Trocknung zeichnet sich auch in dem gleich bleibenden Quotienten T/C ab (Abb. 135).

Einfluss der Testa

Bei -T-Samen wurde die größte Gehaltsabnahme von beiden Purin-Derivaten 48 Stunden nach Beginn der Inkubation beobachtet. Bei getrockneten -T Samen wiesen bereits die 48 Stunden inkubierten Proben vergleichbar niedrige Coffeingehalte auf. Bei den Theobromingehalten wurde dieser Trocknungseffekt nicht beobachtet.

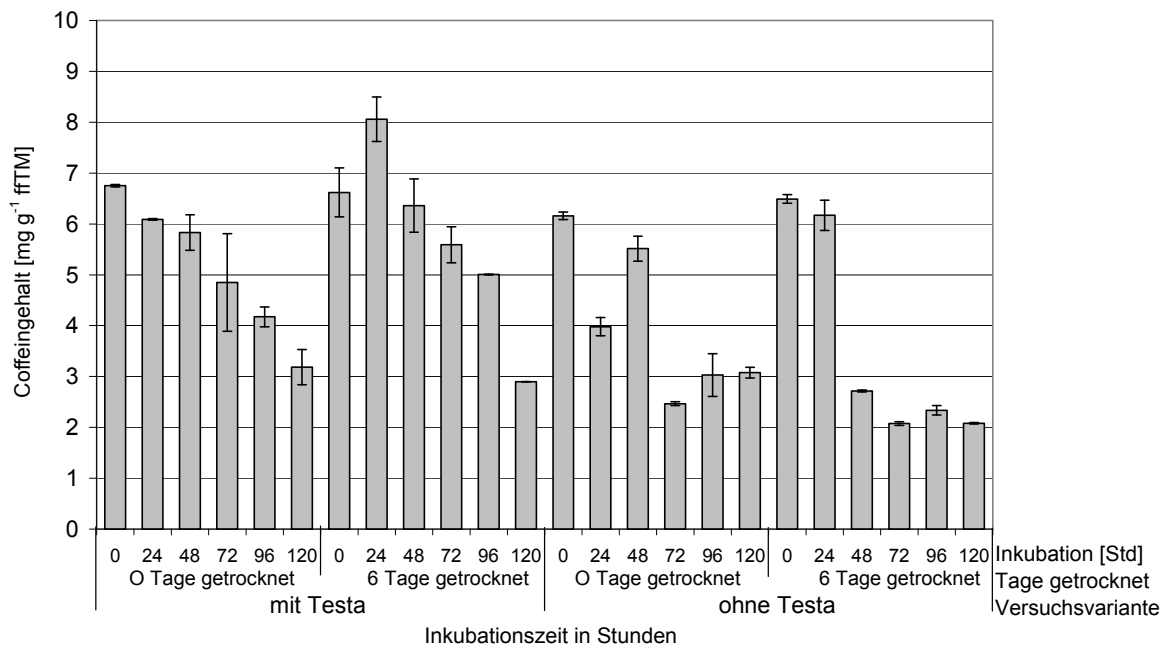


Abb. 133 Coffeingehalte getrockneter Samen der Inkubationsversuche A (+T) und B (-T) n = 4, Fehlerbalken stellen die Standardabweichung dar.

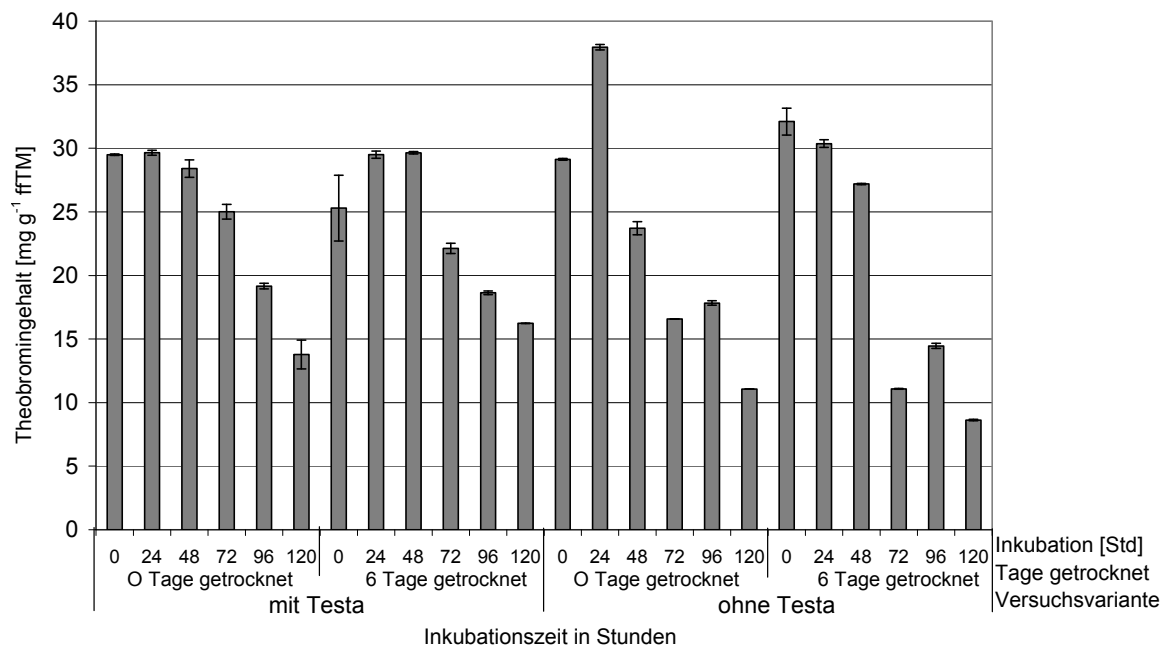


Abb. 134 Theobromingehalte getrockneter Samen der Inkubationsversuche A (+T) und B (-T) n = 4, Fehlerbalken stellen die Standardabweichung dar.

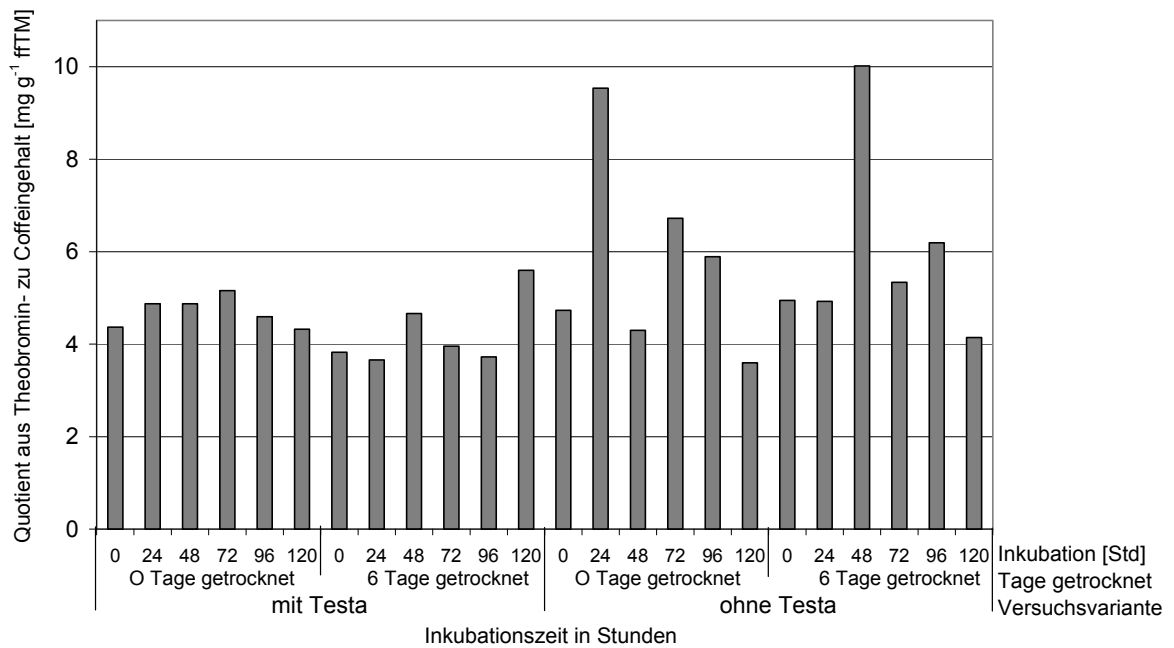


Abb. 135 Quotient aus Theobromin- zu Coffeingehalt getrockneter Samen der Inkubationsversuche A (+T) und B (-T)

4.3.8 Veränderung der Polyphenoloxidase-Aktivität von getrockneten Inkubationsproben im Verlauf der Inkubation

Unterschiedlich lang inkubierte Samen unterschieden sich sehr stark bezüglich der Polyphenoloxidase-Aktivität (Abb. 136). Die Aktivität der Polyphenoloxidase lag bei nicht inkubierten getrockneten Samen zwischen 11 und 15 $\mu\text{kat g}^{-1}$ ffTM. Im Vergleich dazu wurde bei 48 Stunden inkubierten Proben nur noch ein Zehntel dieser Aktivität gemessen. Im weiteren Verlauf der Inkubation verringerte sich die Aktivität bei allen Proben auf unter 0,5 $\mu\text{kat g}^{-1}$ ffTM. Grundsätzlich wurden keine Unterschiede zwischen den inkubierten +T Samen und -T Samen gefunden. Auch zwischen temperaturgeschädigten und unbeschädigten Samen wurde bis auf eine Ausnahme kein Unterschied festgestellt.

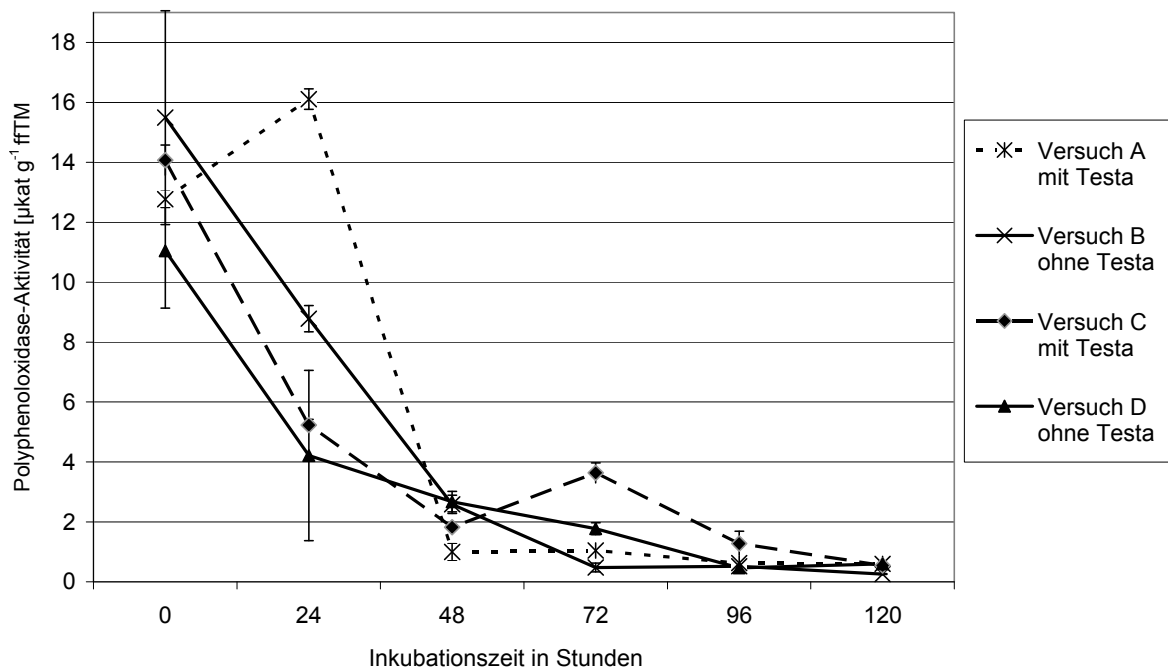


Abb. 136 Veränderung der Polyphenoloxidase-Aktivität getrockneter Samen im Verlauf der Inkubation
n = 3

4.3.9 Veränderung der Aspartylendoprotease-Aktivität von getrockneten Inkubationsproben im Verlauf der Inkubation

Die Inkubationsproben wiesen mit Maximalwerten um 85 pkat g⁻¹ ffTM nur sehr geringe Aspartylendoprotease-Aktivitäten auf (Abb. 137).

Getrocknete aber nicht inkubierte +T-Samen wiesen eine Aspartylendoprotease-Aktivität von 57 pkat g⁻¹ ffTM auf. In Proben, deren Testa vor der Trocknung entfernt wurde, wurde nur eine geringfügig niedrigere Aktivität von 47 pkat g⁻¹ ffTM gemessen.

Die Aktivität nahm in den +T-Samen in den ersten 48 Stunden um ein Drittel zu und sank anschließend auf einen Endwert von ca. 40 pkat g⁻¹ ffTM ab. Diesem Muster ähnlich wurden auch in getrockneten -T-Samen ein Maximalwert nach 48 Stunden und ein minimaler Endwert nach 120 Stunden Inkubation festgestellt.

Die Temperaturschädigung der Samen der Versuche C und D wirkte sich deutlich auf die Aspartylendoprotease-Aktivität aus. Bei getrockneten nicht inkubierten Samen lag die Aktivität im Vergleich zu Samen der Versuchen A und B wesentlich niedriger. In +T-Samen nahm die Aktivität im Verlauf der Inkubation zu, während sie in -T-Samen nach 96 Stunden nicht mehr nachweisbar war.

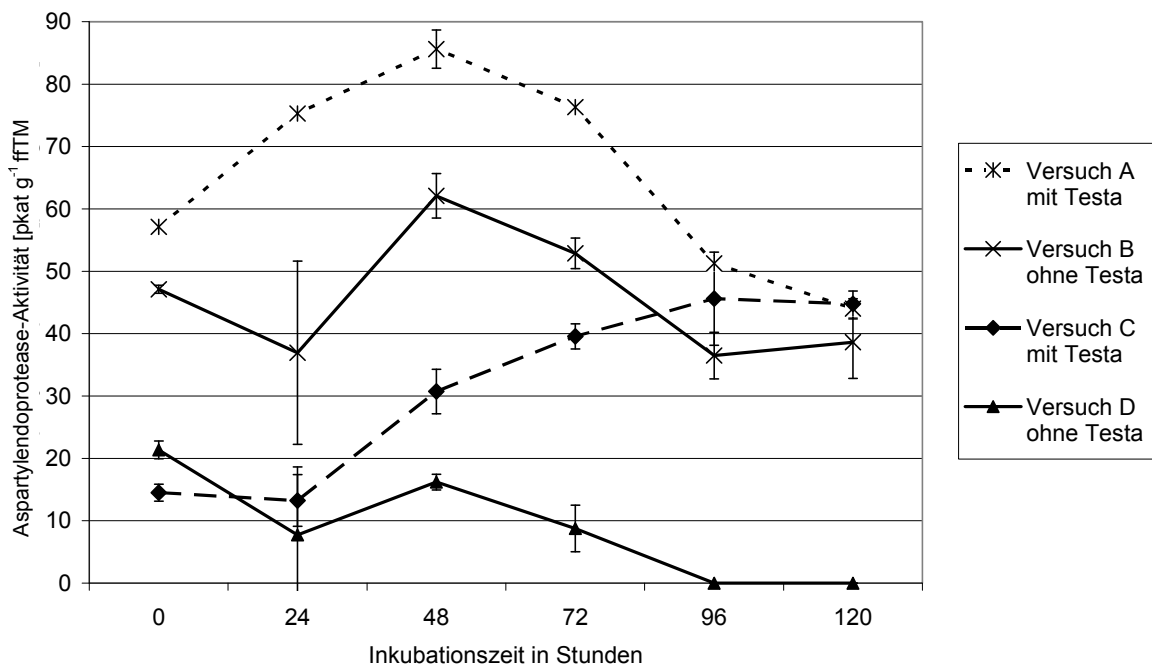


Abb. 137 Veränderung der Aspartylendoprotease-Aktivität getrockneter Samen im Verlauf der Inkubation

4.3.10 Zusammenfassung

Über die artifizielle Fermentation konnten die verschiedenen Fermentationsstadien *schiefbrig*, *violett* und *braun* reproduzierbar hergestellt werden.

Bezogen auf die untersuchten Parameter wurde eine enorm hohe Variabilität in den unterschiedlich inkubierten, getrockneten Samen eines Genotypen festgestellt.

Die einzelnen Fermentationsstadien eines Genotypen wiesen stark voneinander abweichende biochemische Eigenschaften auf. In den *schiefrigen* Inkubationsproben wurden höhere pH-Werte, niedrigere FAA-Gesamtgehalte und teilweise erheblich höhere Epicatechin-, Catechin-, Theobromin-, Coffein- und Anthocyangehalte gemessen als in *violetten* oder *violett-braunen* Proben. Außerdem wurden zwischen den Stadien große Unterschiede in den FAA-Gehalten einzelner FAA und hier insbesondere in der Gruppe der „sauren“ und der Gruppe der „hydrophoben“ FAA sowie bei der nichtproteinogenen Aminosäure GABA festgestellt.

Mit Ausnahme der ohne Testa inkubierten Samen hatte die Trocknung kaum einen Einfluss auf den pH-Wert sowie den Coffein- und Theobromingehalt. Die Catechin- und Epicatechin-gehalte wurden nur in länger als 48 Stunden inkubierten Samen stärker verringert, andere Proben blieben durch den Trocknungsprozess fast unverändert. Der Trocknungseffekt auf die FAA-Gehalte war in kürzer inkubierten Samen größer.

Ob die Samen mit oder ohne Testa (inkl. anhaftender Pulpareste) inkubiert wurden, hatte sowohl auf den pH-Wert als auch auf die Farbe der Samen einen Einfluss. Bei länger als 48 Stunden inkubierten Proben wurden deutlich niedrigere FAA-Gehalte und Theobromingehalte festgestellt. Geringere, aber sichtbare Unterschiede wurden auch bei den Epicatechin- und Coffeingehalten beobachtet. Diese Andersartigkeit wurde auch durch die farblichen Unterschiede der Schnittbilder dokumentiert.

Nur in unfermentierten, *schiefriegen* Rohkakaosamen wurden sehr geringe FAA-Gehalte und sehr hohe Epicatechingehalten und hohe Polyphenoloxidase-Aktivitäten nachgewiesen.

Unter den gewählten, fermentationssimulierenden Bedingungen kann der Einfluss der Nacherntebehandlung Fermentation deutlich an der Farbe des Schnittbildes, der Aktivität der Polyphenoloxidase, dem Epicatechin- und Anthocyangehalt sowie dem FAA-Gesamtgehalt und der FAA-Zusammensetzung festgemacht werden. Das Verhältnis aus Theobromin- zu Coffeingehalt wurde jedoch nur bei Samen verändert, die ohne Testa inkubiert wurden.

5 Diskussion

Die Fragestellung nach der Heterogenität und der Rückführbarkeit der Rohkakao-Qualität auf bestimmte Einflussgrößen ist nicht neu und wurde schon von vielen Autoren bearbeitet. Auf der einen Seite wurde der „ist“-Zustand von gehandeltem Rohkakao anhand von Schnitt-Testergebnissen und einer Auswahl analytischer Methoden z.B. durch die Vorgängerverversionen des Cocoa Atlases „Die Kakaobohnenprüfung 1961/62“ (DIECKMANN & BIEHL, 1962) wie auch einfacher durch das Buch „Cacao Beans Today“ (CRESPO, 1986) aufgezeigt, zum anderen wurden in vielen wissenschaftlichen Studien die Zusammenhänge zwischen möglichen Einflussfaktoren und Qualitätsmerkmalen untersucht. Hierbei lag der Fokus in der Regel auf einem oder wenigen Qualitätsmerkmalen und Einflussfaktoren, seltener wurden systematische Untersuchungen an mehreren Inhaltstoffgruppen bzw. unterschiedlichen Einflussfaktoren durchgeführt (u. a. AMORES, 2006; SUKHA *et al.*, 2006; SUKHA & BUTLER, 2005).

Eine breite Untersuchung an gehandelter Ware, die Bezüge zu verschiedenen Einflussgrößen herstellt und die Heterogenität sowohl zwischen Proben unterschiedlicher Herkünfte, als auch innerhalb von Proben betrachtet, wurde bisher noch nicht durchgeführt.

5.1 Einflussgrößen, die über die Rohkakaqualität entscheiden

5.1.1 Qualität

Der Begriff der Rohkakaqualität ist nicht einheitlich definiert. Je nach Nutzungsaspekt der Verbraucher sind unterschiedliche Faktoren von ausschlaggebender Bedeutung: einerseits ist es der Fettgehalt und die Fettzusammensetzung, andererseits ist es ein hohes Aromavorstufenpotenzial. Geht es darum, beispielsweise gesundheitsfördernde („functional food“) Schokolade herzustellen, müssen die Anforderungen an die Qualität zum Beispiel auf phenolische Inhaltstoffe ausgerichtet sein.

Das Produkt Rohkakao kann diese Breite der Qualitätsanforderungen durchaus erfüllen. Dieser Vorteil ist allerdings gleichzeitig auch ein Nachteil, da die verschiedenen Qualitätseigenschaften durch eine Vielzahl von Parametern bedingt werden, die zueinander in einem komplexen Wechselwirkungsverhältnis stehen.

Diese Wechselwirkungen werden immer besser verstanden, seit die in den Anbauregionen eingesetzten Genotypen molekularbiologisch charakterisiert, gezielte Züchtungsansätze vorgenommen und landesübergreifende Versuche mit identischen Nacherntebehandlungen durchgeführt werden (u. a. ASSEMAT, *et al.*, 2006, SUKHA *et al.* 2007, AMORES, 2006; SUKHA *et al.*, 2006; SUKHA & BUTLER, 2005). Gleichzeitig geben neue Analysemethoden detaillierter Aufschluss über die Bildung von Aromen und ihren Vorstufen (u. a. STARK *et al.*, 2005a,b; FRAUENDORFER & SCHIEBERLE, 2006; ASSEMAT, *et al.*, 2006). Wenn auch bis heute noch

viele Fragen zu qualitätsentscheidenden Parametern unbeantwortet sind, bilden die neuen Erkenntnisse über die Wechselbeziehung zwischen den Einflussfaktoren schon jetzt eine verbesserte Grundlage für die Qualitätseinordnung und Qualitätsbewertung. Um sie aber gezielt nutzen zu können, müssten zukünftig die an den Verwendungszweck gebundenen Eigenschaften genau definiert werden. Erst mit diesen definierten Zielvorgaben können anschließend die neuen Erkenntnisse über das Zusammenspiel der qualitätsbeeinflussenden Größen in Form von optimal angepassten Standort- und Anbaumethoden bzw. Nacherntebehandlungen umgesetzt werden.

5.1.2 Einflussfaktoren: Genotyp, Standort und Reifezustand: Unterschiede zwischen den Großgruppen Criollo, Trinitario und Forastero

Der übliche Ansatz, dass genotypische Vorgaben und edapho-klimatische Standortfaktoren eine Rolle spielen, trifft bei Kakao zweifellos zu. Es lassen sich zahlreiche Beispiele für die hohe Variabilität der Genotypen aus unterschiedlichen Anbaugebieten geben.

Die markantesten genotyp-spezifischen und edapho-klimatischen Unterschiede der Genotyp-Großgruppen Criollo, Trinitario und Forastero sind folgend beschrieben.

Samengröße und Samenfarbe

Allgemein haben Samen der Criollo- und Trinitario-Großgruppen größere und schwerere Samen als solche der Upper-Amazon- oder Lower-Amazon-Forasterogruppe. Auch in der Farbe und Form unterscheiden sich die Samen dieser Großgruppen: Criollo-Kakaosamen sind weiß (seltener rosa), rundlich-oval; die Samen der Lower-Amazon-Forasteros sind flach, länglich und meist dunkel-violett gefärbt, während Trinitario-Kakaosamen alle Farbschattierungen zwischen weiß und tiefviolett aufzeigen können und in der Regel größere Samen als Forastero-Kakaosamen aufweisen.

Dies spiegelt sich auch in den Ergebnissen des Schnitt-Testes der vorliegenden Studie wieder: höhere Gehalte an *hellbrechenden* und *hellbraunen* Samen (eben aus weißen bis rosa Samen) wurden nur in Proben aus Herkünften gefunden, in denen Criollo- und Trinitario-Kakao angebaut wird. Erhöhte Samengewichte wurden hingegen nur in Proben aus Java, Papua-Neuguinea und besonders in Ecuadorproben gemessen.

Methylxanthine

Die als „Fine“ oder „Edelkakao“ bezeichneten Criollo- und Trinitario-Kakaos zeichnen sich durch höhere Coffeingehalte aus und sind weniger bitter und adstringierend als Forastero-Kakaos. Die bei MATISSEK (1998) aufgezeigten Unterschiede im Coffein- und Theobromingehalt zwischen Proben aus Herkünften, die Edelkakao- bzw. Konsum-Kakao anbauen, wurden im Cocoa Atlas (LIEBEREI & ROHSIUS, 2002) bestätigt. Proben dieser beiden Kakao-Gruppen können durch Untersuchung des Coffeingehaltes in Zusammenhang mit dem Quotienten aus Theobromin- zu Coffeingehalt sehr gut voneinander unterschieden werden.

Das Aroma

Nacional-Kakaos (Edelkacao aus Ecuador), im Handel meist unter der Bezeichnung Arriba-Kacao geföhrt, zeichnen sich durch spezielle blumige, fruchtige oder „spicy“ Aromanoten aus (COOK & MEURSING, 1982), die ihre Ursache in höheren Gehalten flüchtiger aromawirksamer Stoffe, wie z.B. Linalool, haben (ZIEGLER, 1990). „Echte“ Criollo-Kakaos (nur noch in Restbeständen vorhanden) und Trinitario-Kakaos weisen besonders milde, leicht nussige Aromen auf und haben auch fermentiert weiße oder hellbraune Samen. Hierzu zählen insbesondere die Java-Kakaos, in geringerem Maße Kacao aus Madagaskar und Papua-Neuguinea. Die Aromanoten von Trinitario-Kacao aus Trinidad werden als karamell- und rosinenartig beschrieben (FOWLER, 1994).

Während WOOD & LASS (1989) als Grund für die unterschiedlichen Aromenausprägungen zwischen Edel- und Konsum-Kacao auch Umwelteinflüsse diskutieren, schließt CLAPPERTON (1994) den Einfluss von Umweltparametern weitestgehend aus. Er folgert aus Fermentationsversuchen und anschließenden sensorischen Prüfungen, dass die aromabezogenen Unterschiede rein genotypspezifisch sind.

Der Fettgehalt und die Fettzusammensetzung

Erwiesenermaßen ist das Zusammenspiel von Genotyp und Standortfaktoren maßgeblich für die Ausprägung bestimmter wertgebender Eigenschaften. So variieren der Fettgehalt und die Fettzusammensetzung in Rohkacao aus unterschiedlichen Anbaugebieten erheblich. Der Fettgehalt, der in frischen Samen zwischen 45% und 60% liegen kann, ist hauptsächlich durch den Genotyp definiert (PIRES *et al.*, 1998). Dabei weisen Criollo- und Trinitario-Kakaos im Mittel niedrigere Werte (~53%) auf als Forastero-Kakaos (55-60%), hier insbesondere UAF-Genotypen (WOOD & LASS, 1989). Allgemein enthalten Samen, deren Gewicht schwerer als 1 g ist, einen höheren Fettanteil als kleinere Samen.

Die Fettsäurezusammensetzung hängt hingegen größtenteils von der Umgebungstemperatur während der Wachstumsphase und dem Reifegrad der Früchte ab (CHAISERI & DIMICK, 1989). Niedrige Temperaturen während der letzten Fruchtreifephase führen zu höheren Anteilen an ungesättigten Fettsäuren, was wiederum geringere Schmelztemperaturen der Kacaobutter zur Folge hat. Rohkacao aus Südamerika, insbesondere Brasilien, ist hierfür ein Beispiel. Kacaobutter mit höheren Schmelztemperaturen ist hingegen für Rohkacao aus Südostasien und Ozeanien typisch. Das liegt daran, dass diese Gebiete im Mittel höhere Temperaturen aufweisen.

Die hier vorliegende Studie bestätigt diese Angaben prinzipiell: insgesamt wurden jedoch um ca. 2-3%-Punkte höhere Fettgehalte festgestellt.

Große Anteile an Diglyceriden und freien Fettsäuren wurden insbesondere in den Proben detektiert, die Schimmelbefall zeigten und erhöhte pH-Werte aufwiesen. Dies kann durch mangelhaft durchgeführte Nacherntebehandlungen (verlängerte Fermentation, ungenügende oder langsame Trocknung, Lagerung) verursacht sein, da die Gehalte an freien Fettsäuren und

der Diglyceridanteil hiervon stark beeinflusst werden. Sowohl ein hoher Gehalt an freien Fettsäuren als auch ein hoher Gehalt an Diglyceriden haben einen negativen Einfluss auf die Fetthärte (FOUBERT *et al.*, 2004).

HERNANDEZ & CASTELLOTE (1991) geben an, herkunftsspezifische Unterschiede zwischen Proben anhand der POS-, SOS- und POP-Triglyceridanteile feststellen zu können.

Eine Unterscheidung der Proben nach Anbaugebieten ist allein anhand der oben genannten Triglyceridwerte nach den hier dargestellten Ergebnissen jedoch nicht möglich. Da in der Studie von HERNANDEZ & CASTELLOTE (1991) nur 20 Proben aus 7 Ländern untersucht wurden, liegt der gefundene Zusammenhang womöglich in der unrepräsentativen Stichprobenauswahl. Generell stimmen die Ergebnisse der hier vorliegenden Arbeit mit der genannten Untersuchungen jedoch überein, was den Befund angeht, dass sich Proben aus Papua-Neuguinea durch sehr niedrige POP-Triglyceridanteile auszeichnen.

Das Pulpavolumen und der Zuckergehalt

Der Genotyp und die während der Reifezeit der Früchte vorherrschenden klimatischen Verhältnisse bestimmen das Volumen und den Zuckeranteil der Pulpa. Nach MOTAMAYOR *et al.* (2000) enthält die Pulpa von Criollo-Kakao mehr Zucker als die von Forastero-Kakao. Nach BIEHL (1996) ist der Zuckergehalt der Pulpa und vor allem das Verhältnis von Pulpa zu Samen bei ghanaischem Kakao niedriger als bei malayischem. BARTLEY (2005) berichtet sogar von unterschiedlichen Aromen und Farben der Pulpa.

Eine systematische Untersuchung dieser Zusammenhänge liegt bislang nicht vor. Dies wäre aber wünschenswert, da die Säureproduktion während der Fermentation grundlegend von diesen Parametern abhängt.

Dass die Konsistenz der Pulpa stark von klimatischen Faktoren beeinflusst wird, zeigen die Parallelfementationen, die auf gleichen Plantagen zu unterschiedlichen Jahreszeiten (Regen- und Trockenzeit) durchgeführt wurden. Leider werden diese Parameter häufig nicht analysiert, wenn Fermentationen unterschiedlicher Genotypen, Fermentationsmethoden oder Standorte verglichen werden (SENANAYAKE *et al.*, 1997).

Fruchtgröße und Samenanzahl

Licht- und Nährstoffzufuhr der Kakaobäume sowie Kronenschnitt und Chemikalieneinsatz (vor allem Insektizide und Pestizide) haben einen deutlichen Einfluss auf den Ernteertrag pro Hektar (LOCKWOOD, 2006). So stellten Untersuchungen an einer Monokultur ohne Schattenbäume fest, dass Düngung den Ernteertrag verdoppelt (WOOD & LASS, 1989). Dabei verändert sich insbesondere die Anzahl der geernteten Früchte pro Baum und Jahr.

Die Samenanzahl pro Frucht und die Samenform werden hingegen überwiegend durch den Genotyp bestimmt: Während die Fruchtgröße an einem Baum stark schwanken kann, bleiben die Samenanzahl, -größe und -gewicht hiervon relativ unbeeinflusst (GLEDINNING, 1963).

Die Testa

Ein bisher kaum beachteter Aspekt ist der Aufbau und die Durchlässigkeit der Testa. ANDERSSON *et al.* (2006) diskutieren den möglichen Einfluss der Testabeschaffenheit auf das Fermentationsergebnis. Inwieweit es bezogen auf die Testabeschaffenheit Unterschiede zwischen den Genotypen gibt, ist nicht bekannt.

Wie sich als Ergebnis der Inkubationsversuche zeigte, stellt die Testa eine effiziente Diffusionsbarriere für die Essigsäure dar: die Senkung des pH-Werts verzögerte sich durch bei mit Testa inkubierten Samen und die Schnittbilder der Samen unterschieden sich. Nur stark angesäuerte Samen erschienen violett, während Samen mit höheren pH-Werten schiefrige Farben aufwiesen. Unterschiede in der Barrierefunktion der Testa haben demnach einen direkten Einfluss auf das Fermentationsergebnis.

Es stellte sich allerdings die Frage, weshalb in den Handelsproben Samen mit deutlich ausgeprägten Farbzonen gefunden wurden. Diese Samen wiesen einen Farbwechsel nur im Bereich der Radikula auf, nicht aber an angrenzenden Bereichen der Testa. Ist die Barrierefunktion nur partiell und lokal begrenzt?

Eine mögliche Erklärung bietet die Untersuchung von ANDERSSON *et al.* (2006). Diese Autoren kommen zu dem Schluss, dass die Barrierefunktion der Testa in der ersten Phase der Ansäuerung vermutlich insbesondere durch die Sklereidzellschicht, die quellende Pulpa und die Cutikula des Endosperms bedingt wird. Gleichzeitig werden in der Studie Strukturen im Bereich der Mikropyle beschrieben, die als mögliche „Sollbruchstellen“ fungieren könnten.

Das bestätigen auch die Schnitt-Bilder gehandelter Rohkakaosamen. Da der Farbumschlag nur an einem einzigen Ort direkt an die Testa grenzt, kommt nur ein Bereich als mögliche Eintrittspforte für Essigsäure in Frage: der Bereich in der Nähe der Radikula. Warum gerade hier?

Sehr wahrscheinlich nimmt zuerst die Radikula während der Quellung des Samens bei der ersten Phase der Fermentation Wasser auf, quillt ihrerseits und drückt infolgedessen gegen die Testa in der Nähe der Mikropyle. Dabei kommt es zu kleinen Fissuren in der Testa. Diese stellen in dieser frühen Phase der Fermentation vermutlich den einzigen Durchlass für Essigsäure und andere Substanzen dar. Werden die Samen in diesem Zustand getrocknet zeichnet sich nur der Bereich violettfarben, wo die Essigsäure die Zellkompartimente bereits angesäuert und infolgedessen zerstört hat, was zum Auslaufen der mit phenolischen Substanzen gefüllten Idioblasten und schließlich zur Verfärbung dieser Zonen im getrockneten Zustand führt.

Dass diese zweifarbigen Stadien nicht häufiger gefunden wurden, liegt vermutlich daran, dass die Barrierefunktion der Testa bei erhöhten Essigsäuregehalten und / oder steigenden Temperaturen zusammenbricht und die Testa für Essigsäure durchlässig wird.

Später, im Verlauf der Trocknung, kann die Testa allerdings erneut als Barriere wirken, wenn zu schnell und heiß getrocknet wird und die Testa von innen verkrustet, sodass überschüssige Essigsäure nicht heraus diffundieren kann (NGANHOU *et al.*, 2003).

Der Testa-Anteil am Gesamtsamen variiert leicht. Für frische und fermentierte Samen wird die gleiche Wertespanne angegeben: zwischen 13 und 19% (PIRES *et al.*, 1998; WOOD & LASS, 1989), wobei bei fermentierten Samen von „shell content“ gesprochen wird, also Testa samt Resten der Pulpa. Bei frischen Samen bezieht sich der Wert nur auf den Testa-Anteil.

Entsprechend dem Verhältnis von Volumen zu Oberfläche ist der Testa-Anteil in kleineren Samen etwas höher als in größeren.

Reifebedingte Unterschiede

Die Homogenität des Samenmaterials wird, neben dem vorliegenden Genotyp, zu einem Großteil vom Reifezustand der Samen beeinflusst. Die Veränderung von Fettgehalt und Fettsäurezusammensetzung sowie die Akkumulation der Speicherproteine, Methylxanthine und phenolischen Substanzen wird erst in den letzten Wochen der Samenreife beendet. Das Trockengewicht der Embryos steigt in den letzten 10 bis 20 Tagen der Fruchtreife um ca. 60-80% an (BUCHERLI *et al.*, 2001). Eine frühe Ernte wirkt sich entsprechend qualitätsmindernd auf das Ergebnis der Fermentation aus: vor allem deshalb, weil auch die Konsistenz und Zusammensetzung der Pulpa sich vor allem in der letzten Reifeperiode noch stark verändert. In dieser Phase erfolgt insbesondere die Akkumulation von einfachen Zuckern, Zitronensäure und Wasser sowie die Aktivierung von pectinolytisch aktiven Enzymen. Genau diese Eigenschaften wirken sich aber, wie bereits erwähnt, entscheidend auf den Fermentationsprozess aus.

Über Lagerung (pod-storage) oder Ausbreiten der Samen (bean-spreading) können das Verhältnis von Pulpa zu Samen und auch teilweise der hohe Zuckergehalt reduziert werden (MEYER *et al.*, 1989).

Überreife Samen keimen bereits in den ersten Stunden nach dem Aufbrechen der Früchte, spätestens in der ersten Phase der Fermentation. Nach der Trocknung erhöht sich die Gefahr einer Kontamination des Samens mit Pilzen und Insekten durch die Öffnungsstelle, an der die Radikula die Testa durchbrochen hat.

Die meisten dieser biologischen Vorgaben bedingen unterschiedliche Reaktionsbreiten der Samen auf die Folgeprozesse.

5.1.3 Nacherntebehandlungen: Fermentation und Trocknung

Fermentation

Die Fermentationsmethoden (Haufen, Kasten, Korb) unterscheiden sich stark voneinander. Alle können aber, so sie denn optimal durchgeführt werden, zu einem vergleichbaren Ergebnis führen. Verantwortlich für das Endergebnis ist dabei vor allem die Menge der Samen, die Durchlüftung, Häufigkeit und Zeitpunkte der Durchmischung, die Isolierung der Fermentationsmasse und natürlich der Zustand und die Zusammensetzung des Ausgangsmaterials.

Wie LOCKWOOD (2006) und AIKOPEDO *et al.* (2006) berichten, wurden in Ghana und Nigeria seit den 1960er-Jahren vermehrt Upper Amazon Forastero in die ursprünglich zu 90% aus WAA bestehenden Bestände eingeführt. Inzwischen bestehen die Pflanzungen zu über 60% aus Kreuzungen dieser Populationen. Erträge und die Resistenz gegenüber der „Black Pod“, einer Pilzerkrankung verursacht durch *Phytophthora* spezie und anderen Krankheiten haben sich seitdem vergrößert: eine wesentliche Veränderung der Rohkakaqualität wurde jedoch nicht beobachtet. Der Grund für die trotz der Einführung der Genotypen gleich bleibende Qualität liegt vermutlich in einer langjährigen Erfahrung bezogen auf den Erntezeitpunkt, die Fermentierung und Trocknung, die summarisch den größeren Effekt auf die Qualität hat. Daneben leisteten sicherlich auch die ehemaligen Reglementierungen durch die Cocoa Boards und die vorhandene Infrastruktur ihren Beitrag dazu.

Beispielhaft für den starken Einfluss der Fermentationsführung seien zudem die Untersuchungen von SENANAYAKE *et al.* (1997) erwähnt, für die drei verschiedene Ausgangsmaterialien auf zwei Farmen mit variierender Belüftung fermentiert wurden. Die Studie zeigt deutlich, dass die Anzahl der Durchmischungen und die Zeitintervalle zwischen den Durchmischungen den größten Effekt auf den Fermentationsgrad und die Homogenität des Materials hatten. Der Genotyp hatte kaum einen Einfluss.

Trocknung

Neben der Fermentation beeinflusst auch die Trocknung das Endergebnis entscheidend. Schlecht durchgeführte Trocknungen, also zu heiße ($> 60^{\circ}\text{C}$), zu langsame oder solche, die mit Rauchkontamination verbunden sind, führen zu massiven Qualitätsminderungen. Andererseits kann die Qualität von zu sauer fermentierten Kakaosamen durch eine optimal angepasste langsame Trocknung verbessert werden.

Folgerung

Der Einfluss der Nacherntemaßnahmen spielt für die Qualität sowohl von Konsumkakaos wie auch von Edelkakaos eine wichtige Rolle hinter der die Bedeutung des Genotyps zurücktritt. Für die Entwicklung besonderer Aromen und Farben (vor allem bei der Produktion von Edelkakaos) ist allerdings der Genotyp maßgeblich.

In einer optimal gelenkten Prozessierung können Kakaosamen daher in einer hohen lebensmittelchemischen Qualität erzeugt werden.

5.1.4 Variabilität der Rohkakaqualität

Qualitätsschwankungen von Rohkaka sind sowohl innerhalb eines Landes, als auch weltweit die Regel. Abgesehen von schlecht ausgeführter und frühzeitig beendeter Trocknung, die zu vermehrtem Schimmelbefall führen kann, liegt die Ursache hierfür meist im Unterlassen der Fermentation, einer uneinheitlich durchgeführten Fermentation oder einer Fermentation, die

auf die Fermentationsmasse (von Samen neuer Genotypen) schlecht angepasst wurde. Obwohl die Beispiele Ghana und Nigeria klar zeigen, dass die Kombination von neuen Genotypen mit alten Prozessierungsverfahren eine äquivalente Qualität erbringen können, sagt doch die Handelserfahrung, dass dieses keineswegs immer der Fall ist.

Auch Preisschwankungen am Weltmarkt oder politische Veränderungen im Produktionsland, sowie vor allem der Zwischenhandelswege („Cocoa provision chain“) können zu verschlechterten Qualitätsergebnissen führen. So resultierte zum Beispiel die politische Krise an der Elfenbeinküste in einem vermehrten Transport von Rohkakao aus dem Krisengebiet in andere Länder. Das führte letztlich zur unnötigen Vermischung mit ungenügend fermentierten Kakaos, wodurch sich die Gesamtqualität der Handelsware in dieser Zeit verschlechterte. Eine Vermischung kann, bei stark ungleichem Ausgangsmaterial, gut von der Samengewichtsverteilung abgelesen werden (FOWLER, 1995). Sie sollte unbedingt vermieden werden, da sie in der Regel eine Verschneidung von qualitativ hochwertigem mit qualitativ minderwertigem Material bedeutet.

Prinzipiell können solche Qualitätsschwankungen schnell und einfach über den Schnitt-Test ermittelt werden. Das Ergebnis liefert eine Aufspaltung der Proben in drei prinzipiell unterscheidbare Qualitäten *schiefbrig*, *violett* und *braun* und ihre Übergangsstufen. Das *schiefbrige* Stadium entspricht unfermentierten, das *violette* unterfermentierten und das *braune* fermentierten Samen. Ausgenommen von dieser Einteilung sind diejenigen Edelkakaos (anthocyanfreie Criollo- und Trinitario-Kakaosamen), bei denen aufgrund der farblichen Differenz nicht sicher zwischen den Stadien unterschieden werden kann.

Über die Hälfte der untersuchten Proben wiesen mehr als 10% schiefbrige und violette Fermentationsstadien auf.

Von diesen drei Fermentationsstadien stellen im klassischen Sinne nur *braune* Samen eine hohe Qualität dar: Bitterkeit, Adstringenz und Säure sind reduziert und Aromavorstufen wurden gebildet. Abhängig von der Verwendung kann aber auch eine hohe Anzahl *violetter* Kakaosamen erwünscht sein. So ist eine gewisse Anzahl an *violetten* Samen in Partien von Arriba-Kakao normal und teilweise auch gewollt.

Insbesondere durch neue Anforderungen an den Kakao (hohe Polyphenolgehalte für „functional food“-Produkte) sind Kakaopartien mit hohen Anteilen an *schiefbrigen* und *violetten* Kakaosamen begehrt.

Wesentlich detaillierter lässt sich der Fermentationsgrad von Handelsproben jedoch mit biochemischen Methoden untersuchen.

Als sehr deutliche Fermentationsindikatoren erwiesen sich dabei der Gehalt an freien Aminosäuren, der Gehalt an phenolischen Substanzen und die Säurewerte Essig- und Milchsäuregehalt sowie der pH-Wert. Die Variationsbreite dieser Parameterwerte reichte bei den

untersuchten Handelsproben grundsätzlich von Werten, die für unfermentierte Samen angegeben werden, bis zu jenen, die für fermentierte Samen typisch sind (Tab. 18). Dabei wurden für viele der Herkünfte charakteristische Variationsbreiten festgestellt. In der Regel unterschieden sich Proben aus Madagaskar, Java, Papua-Neuguinea und Ecuador deutlich von den westafrikanischen Proben.

Tab. 18 Ausgewählte biochemische Charakteristika von frischen und fermentierten Kakaosamen: Beispiele aus der Literatur
Bitte um Beachtung der Bezugsgrößen: grau markierte Daten (*) wurden in mg g^{-1} fetthaltige TM, alle anderen in mg g^{-1} fTM angegeben, letztere beziehen sich also auf die fettfreie Trockenmasse)

Parameter	frische Samen	fermentierte Samen	Handelsproben	Autor/en
pH-Wert	~6,5 ^a ~6,3 ^b	4,7-5,7	4,7 und 6,3	^a JINAP & DANKER, 1993 ^b BIEHL, 1961
Essigsäuregehalt	0-0,47*	1,8-5,7*	2-23,8	ZIEGLEDER & BIEHL 1988
Milchsäuregehalt	0,83-1,03*	1,1-7,1*	9,6-28	ZIEGLEDER & BIEHL 1988
Epicatechingehalt	18-43 ^c 34,6-43,3 ^d	2,6-16,5 ^d	0,96-24,57 ^a	^c NIEMENAK <i>et al.</i> , 2006 ^d KIM & KEENEY, 1984
Gesamtgehalt phenolischer S.	67-149		44,6-139,5	NIEMENAK <i>et al.</i> , 2006
Catechingehalt	0,1-1,3		0,2 -0,85	NIEMENAK <i>et al.</i> , 2006
Gesamtgehalt an FAA	2,4-5,1	9,4-14,5	5,0-25,2	HASHIM <i>et al.</i> 1989 KIRCHHOFF <i>et al.</i> 1989

Als diskriminierende Merkmale für Proben unterschiedlicher Herkünfte stellten sich, neben den Gehalten an Methylxanthinen, vor allem der Rohproteingehalt und der Milchsäuregehalt heraus. Beide Stoffe werden direkt durch den Fermentationsgrad der Samen beeinflusst. Je höher der Milchsäureanteil, desto intensiver war die erste Phase der Fermentation. Eine intensive erste Phase geht mit einem vermehrten Speicherproteinabbau einher. Hat in der ersten Fermentationsphase eine sehr starke Essigsäureproduktion stattgefunden und der pH-Wert der Samen erreichte pH 4,5, kann davon ausgegangen werden, dass neben den Speicherproteinen auch andere Proteine abgebaut und die Abbauprodukte vermutlich ausgeschwemmt wurden (BIEHL, 1995). Entsprechend wiesen Proben mit sehr niedrigen pH-Werten gleichzeitig hohe Gehalte an freien Aminosäuren auf. Anders als man erwarten könnte, wurde eine fast lineare Korrelation aber nicht zwischen dem Essigsäuregehalt oder dem pH-Wert und dem FAA-Gesamtgehalt festgestellt, sondern zwischen dem Milchsäuregehalt und dem FAA-Gesamtgehalt. Dies kann darin begründet sein, dass der Milchsäuregehalte im Zuge der Fermentation kontinuierlich zunimmt und anders als bei der flüchtigen Essigsäure nur ein geringerer Teil durch Diffusion oder Abbau verloren geht. Entsprechend gilt: je höher der Milchsäuregehalt, desto ausgeprägter war die 1. Phase der Fermentation.

Weisen Proben vergleichbare Milchsäuregehalte bei unterschiedlich hohen Essigsäuregehalten auf, kann dies an der unterschiedlichen Durchführung sowohl des Fermentations- als

auch des Trocknungsprozesses gelegen haben. Letzteres liegt darin begründet, dass eine schnelle heiße Trocknung verhindert, dass sich die Essigsäure verflüchtigt, weil sich dabei die Testa schnell zu einer harten Außenhülle verdichtet und im weiteren Verlauf nur noch Wasser nach außen diffundieren kann (NGANHOU, 2003).

Folgerung:

Rohkakao weist eine starke Heterogenität bezogen auf die untersuchten Parameter zwischen Proben unterschiedlicher Herkünfte, aber auch, verursacht durch die hohen Gehalte an *schiefriegen* und *violetten* Samen, innerhalb einzelner Proben auf. Die drastischen Qualitätsunterschiede innerhalb einer Partie sind vor allem auf die unterschiedliche Prozessierung (Fermentation und Trocknung) zurückzuführen.

5.2 Mit den Qualitätsstufen bzw. Fermentationsstadien einhergehende Produktcharakteristika

Die über die Fermentation verursachten Veränderungen können, wie eben schon angedeutet, anhand von verschiedenen Parametern im getrockneten Rohkakao nachgewiesen werden.

Wie stark sich diese aber innerhalb einer Handelspartie unterscheiden, wurde bisher noch nicht untersucht.

Die Analyse der verschiedenen Fermentationsstadien ergab deutliche Unterschiede in den untersuchten biochemischen Charakteristika der verschiedenen Stadien. Die Ergebnisse unterstützen die Befunde aus der Analyse der Handelsproben, die Beziehungen zwischen dem Fermentationsgrad einerseits und den Variablen der Säurewerte, der phenolischen Substanzen und den freien Aminosäuren andererseits, aufzeigten.

Schiefrige Samen wiesen hohe, mit frischen Samen vergleichbare pH-Werte und Gehalte an Epicatechin- und Catechin, sowie beider untersuchten Anthocyane auf. Auch die Aktivität der Polyphenoloxidase und der Aspartylendoprotease liegen in dem gleichen Bereich wie unfermentierte, getrocknete Samen (unfermentierte getrocknete Inkubationsproben).

Bei *violetten* Fermentationsstadien wurde die höchste Variabilität gefunden, teilweise lagen die Werte höher als in *schiefriegen* Samen.

Braune Stadien zeichneten sich, offensichtlich bedingt durch starke Oxidationsprozesse, durch niedrige Enzymaktivitäten und niedrige Gehalte an phenolischen Substanzen aus.

Grundsätzliche Unterschiede in diesem Schema wurden nur in *schiefriegen* Stadien aus Ghana und Indonesien beobachtet: hier lag die Aktivität der Polyphenoloxidase um ein Viertel niedriger als in den Stadien der anderen untersuchten Proben. Eine Erklärung für die Unterschiede zwischen den schiefriegen Samen könnte in der verschiedenartig durchgeführten Trocknung der Samen liegen, denn nach LOPEZ & DIMICK (1991) wird die Polyphenoloxidase durch Temperaturen über 60°C inaktiviert.

Nach KIRCHHOFF (1993) werden zuerst bevorzugt saure Aminosäuren (Asparagin, Asparaginsäure, Glutamin, Glutaminsäure, Histidin) aus den Speicherproteinen freigesetzt, später hydrophobe (Alanin, Leucin, Phenylalanin, Tyrosin, Valin, Isoleucin) und anschließend die verbleibenden (Tryptophan, Lysin, Serin, Glycin, Arginin, Threonin), hier als „saure“, „hydrophobe“ und „andere“ bezeichnet. Daraus ergibt sich, dass die Gehaltszunahme der einzelnen freien Aminosäuren nicht einheitlich erfolgt. Grundsätzlich ist davon auszugehen, dass durch die Hydrolyse der Speicherproteine der Gehalt an freien Aminosäuren im Verlauf der Fermentation zunimmt. Die Ergebnisse von KIRCHHOFF (1993) zeigen weiterhin, dass die Gehaltszunahme der Aminosäuren innerhalb der genannten Gruppen gleichartig ist.

Dieser beschriebene Aminosäureabbau findet sich im Prinzip ebenfalls in den hier untersuchten Stadien wieder, sofern *schiefriige* Stadien als unfermentierte, *violette* als 1-3 Tage fermentierte und *braune* als >4 Tage fermentierte Samen verstanden werden. STOLL (2005) hat an dem hier verwendeten Material Aminosäureanalysen durchgeführt und bestätigt den von den Autoren dargestellten Ablauf.

Die Ergebnisse der unter gleichen Bedingungen fermentierten und nicht fermentierten Edelkakaoproben spiegeln die Spannbreite zwischen unterschiedlichen Genotypen und / oder dem Reifezustand der Samen wieder.

Ergebnisse anderer Enzymaktivitätsmessungen (β -Glucosidase, Peroxidase und Carboxipeptidase) bestätigen ebenfalls, dass generell höhere Aktivitäten der untersuchten Enzyme in *schiefrigen* und *violetten* als in *braunen* Fermentationsstadien sind (NIEMENAK *et al.*, 2006). Diese Enzymaktivitäten reichen durchaus noch aus um „Post“-Nachernteverfahren an aromaarmen, bitterem Material durchzuführen, wie sie bereits von JINAP *et al.* (2002b) an entfettetem Kakaopulver durchgeführt wurden. In einer anderen Arbeit berichtet JINAP *et al.* (2000b) dass, bezogen auf den (-)-Epicatechingehalt (in der Arbeit insbesondere als Bitterkeitsindex verwendet), Erfolg versprechende Ergebnisse nur mit unfermentierten, nicht jedoch mit halb fermentierten („partly fermented“ = 2 Tage fermentierten, sonnengetrockneten) Samen möglich sind.

Grundsätzlich besteht also die Möglichkeit der enzymatischen Nacherntebehandlung von Rohkakaos, inwieweit man diese z. B. durch Vorsortierung in die Fermentationsstadien verbessern könnte, müsste geprüft werden. Sicherlich wäre auch die Kostenfrage dieser Zusatzbehandlungen zu klären.

Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass Rohkakaopartien, biochemisch gesehen, aus mindestens drei unterschiedlich zu bewertenden Qualitäten bestehen. Dabei sind die Unterschiede der hier untersuchten Parameter zwischen den Stadien meist größer als die durch die Herkunft bedingten.

5.3 Reproduktion von Prozessen der Fermentationsabläufe im Labor

Grundsatzunterschiede zwischen den Fermentationsstadien *schiefrig*, *violett* und *braun* von Handelsproben wurden bereits im vorigen Kapitel dargestellt. Die Inkubations- und Trocknungsversuche zeigen, dass die einheitliche Erzeugung unterschiedlicher Rohkakaogüten durch eine gelenkte Prozessierung möglich ist.

Die biochemischen Eigenschaften stimmen mit denen der entsprechenden Fermentationsstadien aus Handelsproben überein. Der Trocknungseinfluss auf die Ausprägung der untersuchten Parameter war nicht stark. Dies kann aber zum Teil auch darin begründet liegen, dass die Trocknung bei 35°C zwar bei niedriger Temperatur, aber bedingt durch die Ventilation sehr schnell ablief.

Das Verhältnis von Theobromin- zu Coffeingehalt wurde im Verlauf der Inkubation nicht wesentlich geändert. Für normale Fermentationen wird allerdings angegeben, dass Coffein, aufgrund seiner besseren Wasserlöslichkeit, in größerer Menge in die Testa oder nach außen diffundiert. Da das Verhältnis von Theobromin- zu Coffeingehalt in frischen Kakaosamen hauptsächlich durch den Genotyp beeinflusst ist, wird es von mehreren Autoren als geeignete Größe zur Unterscheidung von Edel- und Konsumkakaosamen angesehen, allerdings immer in Kombination mit dem Coffeingehalt (AMORES, 2006; ASSEMAT, *et al.*, 2006).

Sehr deutlich wurde der Einfluss der Testa: sowohl der Prozess der Ansäuerung mit einhergehender Ausschwemmung als auch die Trocknung verzögerte sich. Dabei spielt gerade der Prozess der Ansäuerung eine äußerst wichtige Rolle in der Aromavorstufenbildung. In Inkubationsversuchen von VOIGT *et al.* (1995) wurde festgestellt, dass die Aktivität der beiden Proteasen durch den zeitlichen Verlauf und die Stärke der Ansäuerung beeinflusst werden. Durch den unterschiedlichen Abbau der Speicherproteine vom Vicilin-Typ wird damit auch das Aromapotenzial (zu einem Großteil bestehend aus freien Aminosäuren, Oligopeptiden und reduzierenden Zuckern) der Samen stark beeinflusst. Die Ansäuerung ist also essentiell wichtig für die Aromavorstufenbildung und – darauf deuten die Ergebnisse des Inkubationsversuches hin – sie wird eindeutig durch die Testa (mit anhaftenden Pulparesten) beeinflusst.

Dass Samen verschiedener Genotypen unterschiedlich auf eine Essigsäureinkubation reagieren, zeigten JINAP & DANKER (1993) in ihren Experimenten: Bei unterschiedlichen Temperaturen (35-55°C) und Essigsäuregehalten (50-150 mmol) variierte die Dauer der Lebensfähigkeit der Genotypen (ICS 95 und KKM 17) signifikant.

Es bleibt zu prüfen, ob sich die Samen unterschiedlicher Genotypen bezüglich des Aufbaus oder der Zusammensetzung der Testa (evtl. auch Pulpa) unterscheiden. Die Ursache für solche Unterschiede könnten u. a. in dem Zusammenspiel zwischen der Konsistenz und

Zusammensetzung der Schleimstoffe der Pulpa und bestimmten strukturellen Gegebenheiten der Testa liegen.

Die hier vorgelegten Ergebnisse zeigen, dass Inkubationsversuche unter standardisierten Bedingungen und in Kombination mit Trocknungsversuchen die Möglichkeit bieten, einzelne Einflussgrößen detailliert zu untersuchen. Der Vorteil der Inkubation von ganzen Samen besteht darin, dass auch das Ergebnis von regulatorischen Prozessen, wie sie durch die cytologischen Strukturen des Samens vorgegeben werden, mit untersucht wird. Artefakte durch die Zerstörung von Zellmembranen werden ausgeschlossen. Da die im Samen vorliegenden cytologischen Bedingungen unangetastet bleiben, könnten prinzipiell auch hier vorliegende genotypspezifische Unterschiede untersucht werden.

5.4 Perspektiven in der Entwicklung der Rohkakaqualität

In der Entwicklung der Rohkakaqualität wird es zukünftig weit reichende Veränderungen geben. Zum einen stellen neue molekularbiologische Methoden ein gutes Werkzeug dar, um bei Züchtungsprogrammen schon frühzeitig bestimmte Qualitätsmerkmale zu erfassen, wie z.B. die Resistenz gegenüber Krankheiten und Schädlingen, die Samengröße oder höhere Fettgehalte. Zum anderen werden die neuen Methoden in der Aromaanalytik weitere Erkenntnisse zur Differenzierung von Edel- und Konsumkakao bringen. Von besonderem Interesse sind dabei u. a. Zimtsäurederivate aus der Gruppe der Sekundärstoffe, aber auch verschiedene Amine, da ein deutlicher Aromabeitrag von ihnen ausgeht.

Zukünftig sollte geklärt werden, ob diese Stoffe, die bereits in ungeröstetem Kakaomaterial vorliegen können, genotypisch bedingt in unterschiedlichen Gehalten vorkommen.

Bezogen auf die Nachernteverfahren und den Einfluss verschiedener Genotypen auf das Fermentationsergebnis bleibt zu klären, inwieweit die Testa als entscheidender Faktor in der Säureregulierung und in dem Stoffaustausch zwischen Same und Umwelt fungiert.

Können Testa bedingte Eigenschaften evtl. Unterschiede zwischen den optimalen Fermentationszeiten von Criollo-Kakao und Forastero-Kakao erklären?

6 Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde untersucht, wie heterogen in Deutschland gehandelter Rohkakao bezogen auf die wertgebenden Eigenschaften Säuregehalt, Gehalt an phenolischen Substanzen, Coffein- und Theobromingehalt, Gehalt an freien Aminosäuren, Stickstoffgehalt, Fettgehalt, Fermentationsgrad (Schnitt-Test), Samengewicht und Samengewichtsverteilung sowie Enzymaktivitäten (Polyphenoloxidase und Aspartylendoprotease) ist.

Untersucht wurde außerdem die Frage, ob es möglich ist, durch eine standardisierte Nacherntebehandlung die verschiedenen Fermentationsstadien *schiefbrig*, *violett* und *braun* zu generieren. Kombiniert wurden beide Untersuchungen mit der Analyse von Rohkakaomaterial, das unter definierten Bedingungen fermentiert worden war.

Dabei wurden die folgenden Ergebnisse festgestellt:

- Gehandelter Rohkakao unterschiedlicher Herkünfte weist eine große Variabilität bezüglich nahezu aller untersuchten Parameter auf. Dabei wurden in der Regel Messwerte festgestellt, die für unfermentierten, getrockneten bis fermentierten Rohkakao typisch sind. Sehr starke Unterschiede zwischen Rohkakaoproben unterschiedlicher Herkünfte wurden insbesondere über die Analyse der Parameter pH-Wert, Essig- und Milchsäuregehalt, phenolische Substanzen und Gehalt an freien Aminosäuren festgestellt. Proben aus Ecuador, Haiti und Tansania zeichneten sich durch Eigenschaften aus, die für unfermentierten Rohkakao charakteristisch sind, während Rohkakao aus Java, Madagaskar, Papua-Neuguinea und Venezuela Charakteristika von optimal fermentiertem Rohkakao aufwies. Rohkakao aus westafrikanischen Ländern wies Werte auf, die zwischen diesen beiden Herkunftsgruppen lagen.
- Neben herkunftsbezogenen Unterschieden, die hauptsächlich auf die Nachernteverfahren zurückführbar waren, wurden auch genotypspezifische Unterschiede festgestellt. Zu diesen zählten der Theobromin- und der Coffeingehalt. Über die Kenntnis dieser Merkmale war die Unterscheidung zwischen Proben aus Ländern, die Edelkakao anbauen, und anderen Proben möglich.
- Keine der untersuchten Variablen erwies sich allein als geeignet, zwischen Rohkakao unterschiedlicher Herkunft zu diskriminieren. Die Kombination aus verschiedenen Variablen erlaubte es jedoch, zwischen bestimmten Herkünften zu differenzieren. Unterscheiden lassen sich auf diese Weise vor allem Proben aus Ländern und Regionen, die Edelkakao anbauen, von denen anderer Herkünfte.

- Die Heterogenität der Rohware wurde nicht zwischen Proben unterschiedlicher Herkünfte, sondern auch innerhalb einzelner Proben beobachtet. Es wurde nachgewiesen, dass drei grundsätzlich voneinander unterscheidbare Qualitäten in einer Rohkakaoprobe vorhanden sein können, nämlich die Fermentationstadien *schiefzig*, *violett* und *braun*. Sie sind in nahezu allen Proben in unterschiedlichen Anteilen vorhanden.
- Es konnte gezeigt werden, dass Parameter, die durch die Nacherntebehandlungen stark beeinflusst werden, stark miteinander korrelierten. Ein besonders hoher Korrelationskoeffizient wurde zwischen dem Gesamtgehalt an freien Aminosäuren und dem Milchsäuregehalt festgestellt. Dieser spiegelt vermutlich die Dauer und Intensität der ersten Phase der Fermentation wider.
- In der Modellfermentation konnte nachgewiesen werden, dass die Testa für den Ansäuerungsprozess eine entscheidende Rolle spielt. Die Trocknung hatte dagegen kaum einen Einfluss auf die untersuchten Parameter.

Generell kann aus den Ergebnissen geschlossen werden, dass Rohkakao keine einheitliche, sondern eine je nach Herkunft sehr heterogene Ware darstellt. Das liegt zum einen an genetischen oder klimatischen Bedingungen, wie sie an einigen der untersuchten Merkmale, z.B. dem Verhältnis aus Theobromin- zu Coffeingehalt, abgelesen werden können. Weitaus bedeutender ist jedoch der Einfluss der regional unterschiedlich durchgeführten Nacherntebehandlungen. Eine Nachverfolgung der Prozesse, die während der Fermentation und Trocknung stattgefunden haben, ist prinzipiell möglich.

Eine rein genotypische Unterscheidung in Edel- und Konsum-Kakaos greift also zu kurz, denn die beschriebenen qualitätsbestimmenden Einflussfaktoren müssen auf das jeweilige Ausgangsmaterial optimal abgestimmt sein, um die vom Handel gewünschte Rohkakaqualität zu gewährleisten.

Dass bei den Nacherntebehandlungen die Testa eine Schlüsselrolle in der Ansäuerungsphase der Fermentation spielt, konnte hier erstmals aufgezeigt werden. Die genaue Bedeutung der Testa als Barriere gegenüber Säure- und Temperatureinflüssen, wie sie während der Fermentation und Trocknung auftreten, sollte in weiteren Untersuchungen geklärt werden. Darüber hinaus sollte der Frage nachgegangen werden, ob diese Funktion der Testa bei unterschiedlichen Kakao-Genotypen verschieden ausgeprägt ist.

7 Vorveröffentlichung der Dissertation

Teilergebnisse dieser Arbeit wurden in folgenden Arbeiten vorab veröffentlicht:

Publikationen:

- Rohsius, C.; Matissek, R.; Lieberei, R. (2005) Free amino acid amounts in raw cocoas from different origins. *European Food Research Technology*. Vol 222 pp 432-438
- Niemenak, N.; Rohsius, C.; Elwers, S.; Omokolo Ndoumou, D.; Lieberei, R. (2006) Comparative study of different cocoa (*Theobroma cacao* L.) clones in terms of their phenolics and anthocyanins contents. *Journal of Food Composition and Analysis*. Vol 19 pp 612-619
- Lieberei, R.; Rohsius, C. (2003) *Cocoa Atlas 2002* (deutsch: *Cacao Atlas 2002*). Stiftung der deutschen Kakao- und Schokoladen-Wirtschaft (ed) 1st. edn. dresenfunke pr/kommunikation produktion gmbH, Leverkusen CD-Rom 3-9808866-0-3
- Rohsius, C. (2002) Quality Evaluation of cocoa samples from 22 origins: *Cocoa Bean Test 2000*. Reader Service Supplement Autum 2002 *Zucker- und Süßwarenwirtschaft* Vol 54.
- Rohsius, C. (2001) Das Projekt Kakaobohnenprüfung 2000 - Qualitätsprüfung von Rohkakao. *Zucker- und Süßwarenwirtschaft* Vol 7-8 pp 14-15

Tagungsbeiträge und Konferenzen:

- Rohsius, C.; Andersson, M.; Niemenak, N.; Sukha, D.; Lieberei, R. (2006) Fermentation quality and its dependence on the testa structure and transport processes. 15th International Cocoa Research Conference, 9-14 October San José, Costa Rica. (Vortrag)
- Niemenak, N.; Rohsius, C.; Stoll, L.; Lieberei, R. (2006) Residual enzyme activities in traded cocoa samples and their relevance to cacao processing and quality. 15th International Cocoa Research Conference, 9-14 October San José, Costa Rica. (Vortrag)
- Rohsius, C.; Elwers, S.; Reisdorff, C.; Lieberei, R. (2004) Differences in Anatomical and Physiological Characteristics of *Theobroma cacao*, *T. bicolor* and *T. grandiflorum* Seeds with Respect to Processing. Botanikertagung September 2004 Braunschweig. (Vortrag)
- Stoll, L.; Rohsius, C.; Niemenak, N.; Sukha, D.; Lieberei, R. (2006) Formation of the bitter tasting γ -aminobutyric acid (GABA) in the course of fermentation and germination processes. Proceedings of the 15th International Cocoa Research Conference, 9-14 October San José, Costa Rica. Poster Nr. 060

8 Verzeichnisse

8.1 Abkürzungen

Abkürzung/Symbol Bedeutung, Trivialname bzw. chemische Bezeichnung

%	Anteil in Prozent
Σ	Summe
„andere“	Gruppe der freien Aminosäuren: Trp, Lys, Ser, Gly und Arg
„Criollo“	Bezeichnung einer Genotyppopulation aus Venezuela
„hydrophobe“	Gruppe der freien Aminosäuren: Ala, Leu, Phe, Thr, Val und Ile
„Porcelana“	Bezeichnung einer Kakao-Genotyppopulation aus Venezuela
„saure“	Gruppe der freien Aminosäuren: Asp, Asn, Glu, Gln und His
<	kleiner als
>	größer als
\pm	plus minus
\leq	kleiner gleich,
\geq	größer gleich
$^{\circ}\text{C}$	Temperatur in Grad Celsius
μg	Mikrogramm (Masseneinheit; 10^{-6} g)
μkat	Mikrokatal (10^{-6} kat)
μL	Mikroliter (Volumen; 10^{-9} m ³)
μm	Mikrometer (Längeneinheit, 10^{-6} m)
A	+T Versuchsvariante der Inkubation mit Genotyp IMC 67
Abb.	Abbildung
ABTS	2,2-azino-di[3-ethyl-benzothiazolin-(6)-sulfonate]
AFCC	Association Française du Commerce des Cacaos
Ala	Alanin
Antioxidatives P.	Antioxidatives Potenzial
Antiox. Pot.	Antioxidatives Potenzial
ANOVA	Analysis of Variance (statistisches Verfahren, Varianzanalyse)
AOAC	früher Association of Official Agricultural Chemists, dann Association of Official Analytical Chemists, jetzt gültige Abkürzung für „The Association of Analytical Communities“
Arg	Arginin
Asn	Asparagin
Asp	Asparaginsäure
ASS	Arriba Summer Selected, Qualitätsangabe von Ecuadorkakao
ASSS	Arriba Summer Superior Selected, Qualitätsangabe von Ecuadorkakao
B	-T Versuchsvariante der Inkubation mit Genotyp IMC 67
bar	Bar (Druckeinheit; 1 bar = 10^5 Pa)
Bra	Brasilien
BSA	Rinderserumalbumin
C 14	Myristinsäure (Tetradecansäure)
C 15	kein Trivialname bekannt (Pentadecansäure)
C 16	Palmitinsäure (Hexadecansäure)
C 16:1	Palmitoleinsäure (delta-9-cis-Hexadecansäure)
C 17	Margarinsäure (delta-9-cis-Heptadecansäure)
C 17:1	kein Trivialname bekannt (delta-9-cis-Heptadecansäure)
C 18	Stearinsäure (Octadecansäure)
C 18:1	Ölsäure (delta-9-Octadecansäure-omega-9)
C 18:2	Linolsäure (delta-9-cis,delta-12-cis-Octadecadiensäure)
C 18:3	alpha-Linolensäure (delta-9-cis,12-cis,15-cis-Octadecatriensäure)
C 20	Arachinsäure (Eicosan-/Icosansäure)
C 20:1	Gadoleinsäure (delta-9-cis-Eicosen-/Icosensäure)
C 22	Behensäure (Docosansäure)
C 24	Lignocerinsäure (Tetracosansäure)
C	+T Versuchsvariante der Inkubation mit Genotyp IMC 67, temperaturgeschädigt

c	Stoffmengenkonzentration (z.B. mol L ⁻¹)
ca.	circa
CAL	Cocoa Association of London
CCL 202	<i>Theobroma cacao</i> L. Genotypbezeichnung
CCL 217	<i>Theobroma cacao</i> L. Genotypbezeichnung
CCN 1	<i>Theobroma cacao</i> L. Genotypbezeichnung
CCN 31	<i>Theobroma cacao</i> L. Genotypbezeichnung
CCN 51	<i>Theobroma cacao</i> L. Genotypbezeichnung
CCN	<i>Theobroma cacao</i> L. Genotypsammlung aus Ecuador
CEPLAC	Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira
cm	Zentimeter (Längeneinheit 10 ⁻² m)
CRU	Cocoa Research Unit
D	-T Versuchsvariante der Inkubation mit Genotyp IMC 67, temperaturgeschädigt
dest.	destilliert
Dom	Dominikanische Republik
Dom. Republik	Dominikanische Republik
E	+T Versuchsvariante der Inkubation mit Genotyp GU 277G T4, temperaturgeschädigt
E.C.	numerisches Klassifikationssystem für Enzyme (engl. Enzyme Commission numbers)
Ecu mono	Ecuador Mono; unter speziellen Bedingungen fermentierte Proben aus Ecuador (Proben Ecu 5, Ecu 10-13 entsprechen den Genotypen CCN 31, EET 95, EET 103, CCN 51 und EET 48)
Ecu	Ecuador
EET 103	<i>Theobroma cacao</i> L. Genotypbezeichnung
EET 400	<i>Theobroma cacao</i> L. Genotypbezeichnung
EET 48	<i>Theobroma cacao</i> L. Genotypbezeichnung
EET 919	<i>Theobroma cacao</i> L. Genotypbezeichnung
EET 95	<i>Theobroma cacao</i> L. Genotypbezeichnung
EET	<i>Theobroma cacao</i> L. Genotypsammlung benannt nach der „Estación Experimental Tropical“ in Ecuador
Elf	Elfenbeinküste
F	Frequenz
F	-T Versuchsvariante der Inkubation mit Genotyp GU 277G T4, temperaturgeschädigt
F	Wert der Signifikanzabschätzung nach ANOVA mittels F-Test ($F = MQ_{\text{Effekt}} \times MQ_{\text{Fehler}}^{-1}$)
f.f.	fair fermented
Fa.	Firma
FAA	freie Aminosäuren
faq	fair average quality
FFA	freie Fettsäuren
ffTM	fettfreie Trockenmasse
FG	Freiheitsgrad
Flat	Rohkakaosamen, die keinen oder nur einen sehr geringen Kotyledonenanteil aufweisen
g	Gramm (Masseneinheit); Erdbeschleunigung
g.f.	good fermented
GABA	γ-Aminobuttersäure
Gesamt PP	Gesamtphenolgehalt = Gesamtgehalt phenolischer Substanzen
Gha	Ghana
Gln	Glutaminsäure
Glu	Glutamin
Gly	Glycin
GMP	Good manufacturing practice, allgemeiner Standard in der Lebensmittelbranche
GU 277 G T4C	<i>Theobroma cacao</i> L. Genotypbezeichnung
h	Stunden
ha	Hektar (Flächeneinheit 1 ha = 10.000 m ²)
Hai	Haiti
HCl	Salzsäure
HPLC	Hochauflösungsflüssigkeitschromatographie (engl. high performance liquid chromatography)
I.Q.	Institut für Qualitätsmanagement (in Köln)
ICS 1	<i>Theobroma cacao</i> L. Genotypbezeichnung
ICS 94	<i>Theobroma cacao</i> L. Genotypbezeichnung
ICS 95	<i>Theobroma cacao</i> L. Genotypbezeichnung
ICS	International Cocoa Standard

Ile	Isoleucin
IMC 67	<i>Theobroma cacao</i> L. Genotypbezeichnung
Ind Java	Java (Indonesien)
Ind Sul.	Sulawesi (Region von Indonesien)
Ind Sulawesi	Sulawesi (Region von Indonesien)
Ind Sum.	Sumatra (Region von Indonesien)
Ind Sumatra	Sumatra (Region von Indonesien)
Ind	Indonesien
insektenbef.	insektenbefallene Rohkakaosamen
Kam	Kamerun
Kanon. Kor.	Kanonische Korrelation
kat	Katal (katalytische Aktivität; 1 katal = mol s ⁻¹)
kg	Kilogramm (Masseneinheit)
KKK	Kakao-Marke
KOH	Lösung aus Kaliumhydroxid
kp	Kochpunkt
L	Liter (Volumen; 10 ⁻³ m ³)
LAF	Lower Amazon Forastero, Bezeichnung für Kakaopopulationen des oberen Amazonasgebietes
LB-Medium	komplexes Nährmedium (engl. lysogeny broth)
Leu	Leucin
Lib	Liberia
LSD	Least-Significance-Difference-Test (statistischer Signifikanztest nach Varianzanalyse)
Lsg.	Lösung
Lys	Lysin
m	Meter (Längeneinheit)
M/E	Quotient aus Milchsäure- zu Essigsäuregehalt
Mad	Madagaskar
Mal	Malaysia
Max.	Maximum
Max D	Kenngröße des Lilliefors Testes
mbar	Millibar (Druckeinheit; 10 ⁻³ bar)
mg	Milligramm (Masseneinheit)
min	Minuten
Min.	Minimum
Mio.	Millionen
mL	Milliliter (Volumen; 10 ⁻⁶ m ³)
mm	Millimeter (Längeneinheit, 10 ⁻³ m)
mmol	Millimol (Stoffmengeneinheit; 10 ⁻³ mol)
mol	Mol (Stoffmengeneinheit; 6,022 x 10 ²³)
MQ	Mittlere Quadratsumme (SQ x Freiheitsgrade ⁻¹ , ANOVA)
Mrd.	Milliarde
MW	arithmetischer Mittelwert
n	Anzahl der Wiederholungen bzw. Stichprobengröße
N	Stickstoff
Nig	Nigeria
nkat	Nanokatal (10 ⁻⁹ kat)
nm	Nanometer (Längeneinheit, 10 ⁻⁹ m)
Ø	Durchmesser
o. Ä.	oder Ähnliches
O ₂	Sauerstoff
OPA	o-Phthaldialdehyd
p, p-Wert	Irrtumswahrscheinlichkeit
Pa	Pascal (Druckeinheit, 1 Pa = 1 N m ⁻²)
Pap	Papua-Neuguinea
PCA	Principal Component Analysis (Hauptkomponentenanalyse)
PDA	Fotodioden-Array (engl. photo diode array)
pH	pH-Wert: negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
Phe	Phenylalanin
pkat	Picokatal (10 ⁻¹² kat)
pmol	Picomol (Stoffmengeneinheit; 10 ⁻¹² mol)
Png, PNG	Papua-Neuguinea

POP	Palmitinsäure-Ölsäure-Palmitinsäure-Triglycerid
POS	Palmitinsäure-Ölsäure-Stearinsäure-Triglycerid
PPO	Polyphenoloxidase
Probennr.	Probennummer
PTFE	Polytetrafluorethylen
PVPP	Polyvinylpolypyrrolidon
r	Produkt-Moment-Korrelation, Korrelationskoeffizient
r ²	Determinations-Koeffizient, Bestimmtheitsmaß
Root	Faktor-Achse
RP-HPLC	Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatographie
rpm	rounds per minute (engl.; Rotationen pro Minute)
s	Sekunde
Sal	Salomonen
Sao	São Tomé
SD	Standardabweichung der Stichprobe (engl. für standard deviation)
Ser	Serin
Sie	Sierra Leone
Sol	Salomonen (engl. Solomon Islands)
SOS	Stearinsäure-Ölsäure-Stearinsäure-Triglycerid
SPE	Festphasenextraktion (engl. solid phase extraction)
SQ	Summe der Abweichungsquadrate (ANOVA)
Stabw.	Standardabweichung der Stichprobe
Std.	Stunden
Stdf.	Standardfehler
subsp.	Unterart
+T	Inkubationsversuch bei dem die Samen mit Testa und anhaftenden Pulparesten inkubiert wurden
-T	Inkubationsversuch bei dem den Samen vor Inkubation die Testa und anhaftende Pulpareste entfernt wurden
T. g.	<i>Theobroma grandiflorum</i>
T/C	Quotient aus Theobromin- zu Coffeingehalt
Tab.	Tabelle
Tan	Tansania
TCA	Trichloressigsäure
Thr	Threonin
TM	Trockenmasse
TNBS	Trinitrobenzensulfonsäure
Tog	Togo
Tri	Trinidad und Tobago
Tyr	Tyrosin
UAF	Upper Amazon Forastero, Bezeichnung für Kakaopopulationen des unteren Amazonasgebietes
Uga	Uganda
USFDA	Standard der United States Food and Drug Administration
v	Volumen
Val	Valin
Ven	Venezuela
w	Massenanteil (z.B. mg g ⁻¹)
WAA	<i>Theobroma cacao</i> L. Genotypbezeichnung
x	arithmetischer Mittelwert
β	Massenkonzentration (z.B. g L ⁻¹)
λ	Wellenlänge in nm
λ _{em}	Emissionwellenlänge in nm
λ _{ex}	Extinktionswellenlänge in nm
σ	Volumenkonzentration (z.B. ml L ⁻¹)

8.2 *Abbildungsverzeichnis*

Abb. 1	Stark schematisierte Darstellung der ursprünglichen Verbreitung und präkolumbischen Verbreitungsgeschichte der morphogenetischen Gruppen von <i>T. cacao</i> (vereinfacht und verändert nach PARRA, 2000 und WOLTERS, 1999).....	3
Abb. 2	Vermuteter Austausch bzw. Verbreitung unterschiedlicher Kakao-Genotypen in Meso- und Südamerika bis ins 19. Jahrhundert (vereinfacht und verändert nach PARRA, 2000 und BARTLEY, 2005).....	12
Abb. 3	Angenommene Verbreitungswege von <i>T. cacao</i> (stark verändert nach BARTLEY, 2005).....	13
Abb. 4	Früchte und Blüten von <i>T. cacao</i> L.....	24
Abb. 5	Plantagenformen, Wuchsform, Bestockung, Keimling und Wuchsart der Blätter („flush“).....	25
Abb. 6	Reife und gelagerte Frucht, Samenzusammensetzung, Pulpa, Fermentationsmassen.....	26
Abb. 7	Unreife und reife Samen.....	27
Abb. 8	Nahaufnahmen von Querschnitten der Kotyledonen zeigen polyphenolgefüllte Idioblasten.....	28
Abb. 9	Fermentation, Trocknung und Lagerung von Kakaosamen.....	29
Abb. 10	Frische und fermentierte Kakaosamen mit unterschiedlichem Anthocyangehalt sowie Schnitt-Bilder diverser Fermentationsstadien der Probe Hai 1.....	30
Abb. 11	Schnittbilder von 48 und 72 Stunden fermentierten „Criollo“-Kakaosamen.....	37
Abb. 12	Schnittbilder von 24, 48 und 72 Stunden fermentierten „Porcelana“-Kakaosamen.....	38
Abb. 13	Schnittbilder von 72 Stunden fermentierten, 0-6 Tage getrockneten „Criollo“-Rohkakaosamen.....	39
Abb. 14	Schnittbilder von 72 Stunden fermentiertem, 0-5 Tage getrocknetem „Porcelana“-Rohkakaosamen.....	40
Abb. 15	Schnitt-Test Beispiel je eines <i>schiefrigen</i> , <i>schiefrig-violetten</i> und <i>violetten</i> Rohkakaosamens.....	42
Abb. 16	Schnitt-Test Beispiel je eines <i>braunen</i> und <i>weißen</i> Rohkakaosamens.....	42
Abb. 17	Schnitt-Test Beispiel je eines durch Schimmel und durch Insekten befallenen Rohkakaosamens.....	43
Abb. 18	Schematische Darstellung eines befüllten Inkubationsgefäßes.....	57
Abb. 19	pH-Werte der Rohkakaoproben.....	69
Abb. 20	Mittelwertvergleich: pH-Werte der Rohkakaoproben.....	70
Abb. 21	Essigsäuregehalte der Rohkakaoproben.....	71
Abb. 22	Mittelwertvergleich: Essigsäuregehalte der Rohkakaoproben.....	72
Abb. 23	Milchsäuregehalte der Rohkakaoproben.....	73
Abb. 24	Mittelwertvergleich: Milchsäuregehalte der Rohkakaoproben.....	74
Abb. 25	Zusammenhang zwischen pH-Wert und Essigsäuregehalt der Kotyledonen.....	75
Abb. 26	Zusammenhang zwischen pH-Wert und Milchsäuregehalt der Kotyledonen.....	75
Abb. 27	Zusammenhang von Milchsäuregehalt und Essigsäuregehalt.....	76
Abb. 28	Zusammenhang zwischen dem M/E-Verhältnis und dem Essigsäuregehalt.....	77
Abb. 29	Gesamtphenolgehalt der Rohkakaoproben.....	78
Abb. 30	Mittelwertvergleich: Gesamtphenolgehalt der Rohkakaoproben.....	79
Abb. 31	Epicatechingehalte der Rohkakaoproben.....	80
Abb. 32	Mittelwertvergleich: Epicatechingehalte der Rohkakaoproben.....	81
Abb. 33	Catechingehalte der Rohkakaoproben.....	82

Abb. 34	Mittelwertvergleich: Catechingehalte der Rohkakaoproben.....	82
Abb. 35	Antioxidatives Potenzial der Rohkakaoproben.....	84
Abb. 36	Mittelwertvergleich: Antioxidatives Potenzial der Rohkakaoproben.....	84
Abb. 37	Theobromingehalte der Rohkakaoproben.....	86
Abb. 38	Mittelwertvergleich: Theobromingehalte der Rohkakaoproben.....	87
Abb. 39	Coffeingehalt der Rohkakaoproben.....	88
Abb. 40	Mittelwertvergleich: Coffeingehalte der Rohkakaoproben.....	88
Abb. 41	Quotient aus Theobromin- zu Coffeingehalt der Rohkakaoproben.....	90
Abb. 42	Mittelwertvergleich: Quotient aus Theobromin- zu Coffeingehalt der Rohkakaoproben.....	90
Abb. 43	Zusammenhang von Coffeingehalt und Quotienten aus Theobromin- zu Coffeingehalt.....	91
Abb. 44	Summe der freien Aminosäuren (außer GABA) der Rohkakaoproben.....	94
Abb. 45	Mittelwertvergleich: Summe an freien Aminosäuren (außer GABA) von Rohkakao.....	95
Abb. 46	Mittelwertvergleich ausgewählter Aminosäuren.....	96
Abb. 47	FAA-Gehalte der Proben aus Brasilien, der Dominikanischen Republik und Ecuador.....	97
Abb. 48	FAA-Gehalte der Proben von der Elfenbeinküste und aus Ghana.....	98
Abb. 49	FAA-Gehalte der Proben aus Haiti, Indonesien, Kamerun, Liberia und Madagaskar.....	98
Abb. 50	FAA-Gehalte der Proben aus Malaysia, Nigeria und Papua-Neuguinea.....	99
Abb. 51	FAA-Gehalte der Proben aus São Tomé, Sierra Leone, von den Salomonen, aus Tansania, Togo, Trinidad und Tobago, Uganda und Venezuela.....	99
Abb. 52	Zusammenhang zwischen dem Gesamtgehalt an freien Aminosäuren (außer GABA) und dem Summen-Anteil an „sauren“, „hydrophoben“ und „anderen“ freie Aminosäuren.....	100
Abb. 53	Alaningehalt der Rohkakaoproben.....	103
Abb. 54	Mittelwertvergleich: Alaningehalt der Rohkakaoproben.....	104
Abb. 55	Asparaginsäuregehalte der Rohkakaoproben.....	105
Abb. 56	Mittelwertvergleich: Asparaginsäuregehalt der Rohkakaoproben.....	106
Abb. 57	Threoningehalt der Rohkakaoproben.....	107
Abb. 58	Mittelwertvergleich: Threoningehalt der Rohkakaoproben.....	107
Abb. 59	γ -Aminobuttersäure Anteil der HPLC-Fläche (GABA-Wert) der Rohkakaoproben.....	108
Abb. 60	Mittelwertvergleich: γ -Aminobuttersäure Anteil der HPLC-Fläche (GABA-Wert) der Rohkakaoproben.....	109
Abb. 61	GABA-Wert in Abhängigkeit von dem Gesamtgehalt an hydrophoben FAA.....	109
Abb. 62	Stickstoffgehalt der Rohkakaoproben.....	111
Abb. 63	Mittelwertvergleich: Stickstoffgehalt der Rohkakaoproben.....	111
Abb. 64	Rohproteingehalt der Rohkakaoproben.....	112
Abb. 65	Mittelwertvergleich: Rohproteingehalt der Rohkakaoproben.....	113
Abb. 66	Fettgehalt der Rohkakaoproben.....	115
Abb. 67	Mittelwertvergleich: Fettgehalt der Rohkakaoproben.....	115
Abb. 68	Durchschnittliche Fettsäurezusammensetzung von 120 Rohkakaoproben.....	116
Abb. 69	Fettsäureverteilung: Wertebereich und Median der Fettsäuren \geq C 14.....	117
Abb. 70	Palmitinsäureanteil in % am Gesamtfettsäuregehalt der Rohkakaoproben.....	118
Abb. 71	Mittelwertvergleich: Palmitinsäureanteil der Rohkakaoproben.....	118
Abb. 72	Stearinsäureanteil in % am Gesamtfettsäuregehalt der Rohkakaoproben.....	119
Abb. 73	Mittelwertvergleich: Stearinsäureanteil der Rohkakaoproben.....	120
Abb. 74	Ölsäureanteil in % am Gesamtfettsäuregehalt der Rohkakaoproben.....	121

Abb. 75	Mittelwertvergleich: Ölsäureanteil der Rohkakaoproben.....	121
Abb. 76	Linolsäureanteil in % des Gesamtfettgehaltes der Rohkakaoproben.....	122
Abb. 77	Mittelwertvergleich: Linolsäureanteil der Rohkakaoproben	123
Abb. 78	Diglyceridanteil in % am Gesamtfettgehalt der Rohkakaoproben.....	124
Abb. 79	Mittelwertvergleich: Diglyceridanteil am Gesamtfettgehalt von Rohkakao	124
Abb. 80	POP-Triglyceridanteil in % der Rohkakaoproben	125
Abb. 81	Mittelwertvergleich: POP-Triglyceridanteil der Rohkakaoproben.....	126
Abb. 82	POS-Triglyceridanteil in % der Rohkakaoproben	127
Abb. 83	Mittelwertvergleich: POS-Triglyceridanteil der Rohkakaoproben.....	127
Abb. 84	SOS-Triglyceridanteil der Rohkakaoproben.....	128
Abb. 85	Mittelwertvergleich: SOS-Triglyceridanteil der Rohkakaoproben.....	129
Abb. 86	Samengewicht der Rohkakaoproben.....	130
Abb. 87	Mittelwertvergleich: Samengewicht der Rohkakaoproben.....	131
Abb. 88	Gewichtsverteilung von 100 Samen jeder Rohkakaoprobe	131
Abb. 89	Modale Verteilungsmuster der Gewichtsklassen und Samengewichte der Rohkakaosamengewichte am Beispiel der Probe Ven 3.....	133
Abb. 90	Linksschiefes und rechtsschiefes Verteilungsmuster der Gewichtsklassen und Normalverteilungsplot der Rohkakaosamengewichte am Beispiel der Probe A) Uga 2 (linksschiefes Verteilungsmuster) und B) Ind 6 (rechtsschiefes Verteilungsmuster).....	133
Abb. 91	Verteilungsmuster ohne ausgeprägte Häufigkeitsmaxima bestimmter Gewichtsklassen und Normalverteilungsplot der Rohkakaosamengewichte am Beispiel der Probe Tan 3.....	134
Abb. 92	Mehrgipfelige Verteilungsmuster der Gewichtsklassen und Normalverteilungsplot der Rohkakaosamengewichte am Beispiel der Probe Ind 4.....	134
Abb. 93	Gewichtsanteil [%] der Kotyledonen am Rohkakaosamen.....	136
Abb. 94	Gewicht [g] der Kotyledonen.....	136
Abb. 95	Gewichtsanteil [%] Testa und anhaftender Pulparesten am Rohkakaosamen	137
Abb. 96	Gewicht [g] Testa und anhaftender Pulparesten am Rohkakaosamen.....	137
Abb. 97	Gewichtsanteil [%] Radikula am Rohkakaosamen.....	138
Abb. 98	Gewicht [mg] der Radikula.....	138
Abb. 99	Typische Beispiele der Fermentationsstadien <i>schiefrig</i> , <i>violett</i> und <i>braun</i> unterschiedlicher Rohkakaoproben.....	140
Abb. 100	Anteil an <i>schiefrigen</i> Rohkakaosamen.....	141
Abb. 101	Anteil an <i>violetten</i> Rohkakaosamen.....	141
Abb. 102	Summe aus <i>violetten</i> und <i>schiefrigen</i> Rohkakaosamen	142
Abb. 103	Summe aus <i>hellbrechenden</i> und <i>hellbraunen</i> Rohkakaosamen.....	143
Abb. 104	Summe aus <i>braunen</i> , <i>hellbrechenden</i> und <i>hellbraunen</i> (entspricht fermentierten) Rohkakaosamen	144
Abb. 105	Besonderheit der Fermentationsstadien <i>schiefrig-violett</i> , <i>schiefrig-braun</i> und <i>violett-braun</i> aus unterschiedlichen Herkünften	145
Abb. 106	Anteil schimmlicher Rohkakaosamen	146
Abb. 107	Beziehung zwischen dem Anteil an fermentierten Samen und dem Epicatechingehalt.....	148
Abb. 108	Zusammenhang zwischen der Summe der FAA-Gehalte und dem Essigsäuregehalt.....	149
Abb. 109	Zusammenhang zwischen der Summe der FAA-Gehalte und dem Milchsäuregehalt.....	149
Abb. 110	Zusammenhang zwischen dem γ -Aminobuttersäure Anteil (GABA-Wert) und dem Epicatechingehalt	150
Abb. 111	Grafische Darstellung der Hauptkomponentenanalyse (PCA) von 37 Variablen..	151

Abb. 112 Grafische Darstellung der agglomerativen Clusteranalyse.....	152
Abb. 113 Grafische Darstellung der Hauptkomponentenanalyse der untersuchten Rohkakaoproben	154
Abb. 114 Grafische Darstellung der Diskriminanzanalyse von Rohkakaoproben aus 13 Herkünften (1. und 2. Achse).....	155
Abb. 115 Grafische Darstellung der Diskriminanzanalyse von Rohkakaoproben aus 13 Herkünften (1. und 3. Achse).....	156
Abb. 116 Grafische Darstellung der Diskriminanzanalyse von Rohkakaoproben aus 13 Herkünften (1. und 4. Achse).....	156
Abb. 117 Grafische Darstellung der Diskriminanzanalyse von Rohkakaoproben aus 13 Herkünften (1. und 5. Achse).....	157
Abb. 118 pH-Werte der Fermentationsstadien <i>schiefbrig</i> , <i>violett</i> und <i>braun</i>	161
Abb. 119 Aspartylendoprotease-Aktivität der Fermentationsstadien <i>schiefbrig</i> , <i>violett</i> und <i>braun</i>	162
Abb. 120 Polyphenoloxidase-Aktivität der Stadien <i>schiefbrig</i> , <i>violett</i> und <i>braun</i>	163
Abb. 121 Epicatechin- und Catechingehalt der Fermentationsstadien <i>schiefbrig</i> , <i>schiefbrig- violett</i> , <i>violett</i> , <i>braun</i> und der Mischprobe der Proben Hai 1 und Ecu	164
Abb. 122 Anthocyangehalte der Probe Hai 1 (Fermentationsstadien <i>schiefbrig</i> , <i>schiefbrig- violett</i> , <i>violett</i> , <i>braun</i> und der Mischprobe).....	165
Abb. 123 Veränderung der Gehalte an freien Aminosäuren während der Fermentation von Edelkacao (Criollo- und Porcelana-Kacao).....	166
Abb. 124 Gehalte an freien Aminosäuren in nicht fermentierten und sieben Tage fermentierten Rohkacao unterschiedlicher Genotypen.....	167
Abb. 125 pH-Wert der Kotyledonen nach der Inkubation.....	170
Abb. 126 pH-Wert der Kotyledonen nach Trocknung der inkubierten Samen	171
Abb. 127 Schnittbilder getrockneter Samen der Inkubationsversuche A (-T) und B (+T) ...	173
Abb. 128 FAA-Gehalte getrockneter und nicht getrockneter Samen der Inkubationsversuche A (+T) und B (-T).....	175
Abb. 129 FAA-Gehalte getrockneter und nicht getrockneter Samen der Inkubationsversuche C (+T) und D (-T).....	175
Abb. 130 Epicatechingehalte getrockneter und nicht getrockneter Samen der Inkubationsversuche A (+T) und B (-T).....	176
Abb. 131 Catechingehalte getrockneter und nicht getrockneter Samen der Inkubationsversuche A (+T) und B (-T).....	177
Abb. 132 Gehalte an Cyanidin-3-arabinosid und Cyanidin-3-galactosid getrockneter Samen der Inkubationsversuche A (+T) und B (-T).....	178
Abb. 133 Coffeingehalte getrockneter Samen der Inkubationsversuche A (+T) und B (-T)	179
Abb. 134 Theobromingehalte getrockneter Samen der Inkubationsversuche A (+T) und B (-T).....	179
Abb. 135 Quotient aus Theobromin- zu Coffeingehalt getrockneter Samen der Inkubationsversuche A (+T) und B (-T).....	180
Abb. 136 Veränderung der Polyphenoloxidase-Aktivität getrockneter Samen im Verlauf der Inkubation	181
Abb. 137 Veränderung der Aspartylendoprotease-Aktivität getrockneter Samen im Verlauf der Inkubation.....	182

8.3 Tabellenverzeichnis

Tab. 1	Qualitätscharakteristika von Rohkakao (zusammengefasst nach BCCCA., 1996)	20
Tab. 2	Schnitt-Test: Grenzwerte nach CAL und AFCC	21
Tab. 3	Probenname und Herkunft der Proben des Cocoa Atlases mit Kennzeichnung der Proben für die FAA-, die Diskriminanz- und die Clusteranalyse (Kapitel 3.2.2.10, 3.2.4.3, 3.2.4.4)	33
Tab. 4	Herkunft der Proben und Probenanzahl	35
Tab. 5	Schema der Mischung der drei Fermentationsschichten.....	37
Tab. 6	Liste der nach JARDINE (1999) und ZIEGLER und BIEHL (1988) in <i>T. cacao</i> Samen vorkommenden und in dieser Untersuchung als Standard verwendeten phenolischen Substanzen	53
Tab. 7	Versuchsbedingungen der fermentationsähnlichen Inkubationen	58
Tab. 8	Korrelationsmatrix von Catechin- und Epicatechingehalt, Gesamtphenolgehalt und Antioxidativem Potenzial.....	85
Tab. 9	Edelkakao anbauende Herkünfte laut Internationalem Kakaoabkommen Annex C, Einteilung über den Quotienten aus Theobromin- zu Coffeingehalt.....	92
Tab. 10	Korrelationsmatrix: Gesamtgehalt, Summe der „sauren“, „hydrophoben“ und „anderen“ FAA	101
Tab. 11	Relative Gehalte an freien Aminosäuren in Rohkakao in mol % und Mittelwerte pro Land	102
Tab. 12	Einordnung der Rohkakaoproben entsprechend ihrer Verteilungsmuster der Rohkakaosamen-Gewichtsgruppen.....	135
Tab. 13	Mittelwerte und Spannweiten von Gewichtsanteil [%] und Gewicht [g und mg] von Kotyledonen, Radikula und Testa mit anhaftender Pulpareste bei Rohkakaosamen	139
Tab. 14	Standardisierte kanonische Diskriminanzfunktionskoeffizienten der Variablen...	158
Tab. 15	Statistische Kennwerte der Diskriminanzanalyse	158
Tab. 16:	Stadien-Zusammensetzung der Rohkakaoproben.....	160
Tab. 17	Versuchsbedingungen der Inkubationsversuche.....	169
Tab. 18	Ausgewählte biochemische Charakteristika von frischen und fermentierten Kakaosamen: Beispiele aus der Literatur.....	192
Tab. 19	Kennwerte der Ergebnisse aus Kapitel 4.1.2 bis 4.1.7.4 (Mittel-, Minimum- und Maximumwerte).....	220
Tab. 20	Kennwerte der Ergebnisse aus Kapitel 4.1.6 (Mittel-, Minimum- und Maximumwerte der Fettsäuren)	221
Tab. 21	Einzelwerte der Proben: Säurewerte, phenolische Substanzen, Stickstoff- und Rohproteingehalt.....	222
Tab. 22	Einzelwerte der Proben: Werte der Analyse der freien Aminosäuren	224
Tab. 23	Einzelwerte der Proben: Fettgehalt und Fettzusammensetzung	226
Tab. 24	Einzelwerte der Proben: Schnitt-Test Ergebnisse.....	228
Tab. 25	Varianzanalyse zur Überprüfung des Effektes Herkunft auf die untersuchten Variablen der Kapitel 4.1.2-4.1.7.4.....	230
Tab. 26	Korrelationsmatrix für ausgewählte Untersuchungsparameter des Kapitels 4.1 unter Ausnahme der freien Aminosäuren	231
Tab. 27	Korrelationsmatrix für ausgewählte Untersuchungsparameter des Kapitels 4.1 inklusive der freien Aminosäuren.....	232
Tab. 28	Normalverteilungstest nach Lilliefors.....	233

8.4 Literaturverzeichnis

- Aikpokpodion, P. et al. (2006) Genetic diversity in Nigerian Cacao (*Theobroma cacao* L.) populations determined by simple sequence repeat markers: implications for cultivar development and global genetic resources utilization. 5th INGENIC Workshop on Cocoa Breeding for Farmers`needs, San José, Costa Rica. pp 7
- Alvim, P. de T. (1977) In: Ecophysiology of Tropical Crops, ed. P. De T. Alvim T. T. Kozlowski. Academic Press, New York, USA, pp 279-314 zitiert in Lopez, A. S.; Dimick, P. S. (1991)
- Amin, I.; Jinap, S.; Jamilah, B.; Harikrisna K; Biehl, B. (2002) Analysis of vicilin (7S)-class globulin in cocoa cotyledons from various genetic origins. *Journal of the Science of Food & Agriculture*. Vol 82 pp 728-732
- Amores, F. (2006) Diferentiation of cocoa origins: some results and perspectives, Scientific Cocoa Meeteing organized by Cirad, May 16-17, Paris, France. PowerPoint Presentation
- Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG: Verfahren zur Probennahme und Untersuchung von Lebensmitteln, Tabakerzeugnissen, kosmetischen Mitteln und Bedarfsgegenständen: Bundesgesundheitsamt (Hrsg. und Red.). Methode L-115.00-2: Bestimmung von Alfatoxin B1 und der Summe von B1, B2, G1 und G2 in Getreiden, Schalenfrüchten und verwandten Produkten
- Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG: Verfahren zur Probennahme und Untersuchung von Lebensmitteln, Tabakerzeugnissen, kosmetischen Mitteln und Bedarfsgegenständen: Bundesgesundheitsamt (Hrsg. und Red.). Methode L-18.00-16: Bestimmung von Theobromin und Coffein in feinen Backwaren
- Andersson, M.; Koch, G.; Lieberei, R. (2005): Structure and function of the seed coat of *Theobroma cacao* L. and its possible impact on flavour precursor development during fermentation. *Journal Applied Botany and Food Quality*. Vol 80 pp 48-62
- Anon. (2007) Transport-und Informations-Service Information der GDV (Gesamtverband der deutschen Versicherungswirtschaft). Im Internet veröffentlichte Fachinformation der Deutschen Transportversicherer (<http://www.tis-gdv.de/tis/ware/genuss/kakao/kakao.htm#anfang>)
- Anon. (2005) In: Murphy, R; Holmes, K. (eds) *Global Research on cocoa (GRO-Cocoa)* CABI Commodites, Egham, UK. pp 5
- AOAC (Association of Analytical Chemists) Official Method 970.21 pH of Cocoa Products
- Assemat, S.; Boulanger, R.; Davrieux, F.; Cros, E.; Jeanjean, N.; Chanliau, S.; Guehi, T.; Portillo, E.; Alvarez, C.; Jimenez, J.C. (2006) Attributes and determinant of Quality. Cocoa meeting – Paris, 16-17 May, 2006
- Bartley, B.G.D. (2005) *The Genetic Diversity of Cacao and its Utilization*. CABI Publishing, Oxforsshire, Cambridge. Vol pp 369
- Baumann, T.W. (1996) Coffein. *Bot Helv*. Vol 106 pp 127-158
- BCCCA (Biscuit, Cake, Chocolate and Confectionery Alliance) (1996): *Cocoa Beans Chocolate Manufacturers` Quality Requirements*. BCCCA, London. Vol 4 pp 1-27,
- Bennett, A.B. (2003) Out of the Amazon: *Theobroma cacao* enters the genomic era. *Trends in Plant Science*. Vol 8 (12) pp 561-563
- Bertani, G. (1951): Studies on lysogenesis. I. The mode of phage liberation by lysogenic *Escherichia coli*. In: *J. Bacteriol*. Bd. 62, Nr. 3, pp 293-300
- Biehl, B. (1973) Changes in subcellular structure in the cotyledons of cocoa seeds during fermentation and drying. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*. Vol 153 pp 137-147
- Biehl, B. (1961) Bericht über Arbeiten im Rahmen des Forschungsinstitutes für Kakaowirtschaft e. V. Hamburg in den Jahren 1956-1959. *Gordian*. Vol 61 (1443) pp 26-35

- Biehl, B. (1973) Veränderungen der subzellulären Struktur in Keimblättern von Kakaosamen (*Theobroma cacao* L.) während der Fermentation und Trocknung. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*. (153) 137-150
- Biehl, B. (1996) Postharvest processing in Asia: approaches towards flavour improvement. Cocoa meetings, The various aspects of quality. Seminar Proceedings, June 30, 1995, CIRAD, Montpellier, France, pp. 75-90, 181-194
- Biehl, B.; Wewetzer, C.; Passern, D. (1982) Vacuolar (Storage) Proteins of Cocoa Seeds and their Degradation during Germination and Fermentation. *Journal of the Science of Food & Agriculture* Vol (33) pp 1291-1304
- Biehl, B.; Meyer, B. (1990) Bean spreading: a method for pulp preconditioning to impair strong nib acidification during cocoa fermentation in Malaysia. *Journal of the Science of Food & Agriculture*. Vol 51 pp 35-45
- Bouharmont, 1960 zitiert in: Dangou, J.S.; Hocher, V.; Ferrière, N.; Fulcheri, C.; Morard, P.; Alemanno, L. (2002) Histological and biochemical characterization of *Theobroma cacao* L. endosperm during seed development. *Seed Science Research*. Vol 12 pp 91-100
- Bonvehi, J.S.; Coll, F.V. (2000) Evaluation of purine alkaloids and diketopiperazines contents in processed cocoa powder. *European Food Research Technology*. Vol 210 pp 189-195
- Bracco, U.; Grailhe, N.; Rostango, W.; Egli, R.H. (1969) Analytical evaluation of cocoa curing in the Ivory Coast. *Journal of the Science of Food & Agriculture*. Vol 20 pp 713-717
- Bravo, L. (1998) Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews*. Vol 56 (11) pp 317-333
- Brito, E.S. de; Garcia, N.H.P.; Amanicio, A.C. (2002) Effect of Polyphenol Oxidase (PPO) and air treatments on total phenol and tannin content of cocoa nibs. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Vol 22 (1) pp 45-48
- Brown, H.B. (1954) The separation of pigment cells in cacao. *Nature*. Vol 173 pp 492
- Bucheli, P.; Rousseau, G.; Alvarez, M.; Laloi, M.; McCarthy, J. (2001) Developmental Variation of Sugars, Carboxylic Acids, Purine Alkaloids, Fatty Acids, and Endoproteinase Activity during Maturation of *Theobroma cacao* L. Seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol 49 (10) pp 5046-5051
- Bytof, G.; Knopp, S.E.; Schieberle, P.; Teutsch, I.; Selmar, D. (2004) Influence of processing on the generation of γ -aminobutyric acid in green coffee beans. *European Food Research and Technology*. Vol 220 (3-4) pp 245-250 DOI: 10.1007/s00217-004-1033-z
- CAOBISCO (Association of the Chocolate, Biscuit and Confectionery Industries of Europe)
- Carr, J.G. (1982) Cocoa. In: *Fermented foods*. Schriftenreihe: Economic Microbiology, Rose, A. H. (eds) London: Academic Press. pp 275-292
- Chaiseri, S.; Dimick, P.S. (1989) Lipid and hardness characteristics of cocoa butters from different geographic regions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. Vol 66 (11) pp 1771-1776
- Cheesman, E. (1927) Fertilization and embryogeny in *Theobroma cacao* L.. *Annals of Botany*. Vol 41 pp 107-125
- Cheesman, E. (1944) Notes on the nomenclature, classification and possible relationships of cacao populations. *Trop. Agric*. Vol 21 pp 144-59
- Clapperton, J. (1994) Visit Report November 1994 The BAL/BCCCA Estate and Cocoa Flavour and Quality Report. BCCCA London.
- Cook, L.R.; Meursing, E.H (1982) *Chocolate production and use*. Harcourt Brace Jovanovich, New York. pp 15
- Cope, F.W. (1962) The mechanism of pollen incompatibility in *Theobroma cacao* L. *Heredity*. Vol 17 pp 157-182
- Crespo, S. (1986) *Cacao Beans Today*. 1st Edition, Veitch Printing Corporation, Lancaster, PA. pp 1-107

- Cros, E.; Villeneuve, F.; Vincent, J. C. (1984) Evolution des Composés polyphénoliques du cacao au cours de la fermentation en relation avec la qualité. Proc. 9. éme Conference internationale sur la recherche cacaoyere Lomé Togo 12-18.02.1984. pp 651-655
- Cuatrecasas, J. (1964) Cacao and its Allies: A Taxonomic Revision of the Genus Theobroma. Bulletin of the United States National Museum; Proc. US Natl. Herb. Vol 35 (6) pp 377-614
- Dand, R. (1993) The international cocoa trade. London, UK. Woodhead publishing, pp 383
- Deutsches Statistisches Bundesamt, Wiesbaden, Gustav-Stresemann Ring 11; 65189 Wiesbaden
- DGF: Deutsche Einheitsmethoden zur Untersuchung von Fetten, Fettprodukten, Tensiden und verwandten Stoffen: DGF Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaft e. V. (Hrsg.) Wiss. Verlagsgesellschaft Stuttgart 1950: DGF C-V 2 (81) (acid values); DGF C-VI 11d (98) (fatty acids); DGF C-VI 10a (00) (fatty acid methyl ester)
- Dieckmann, D.; Biehl, B. (1962), Kakaobohnenprüfung 1961/62. 2. Aufl. Verlag Gordian-Max Rieck GmbH. pp 1-135
- Dillinger, T.L.; Barriga, P.; Escárcega, S.; Jimenez, M.; Lowe, D.; Salazar, G.; Louis E. (2000) Food of the Gods: Cure for Humanity? A Cultural History of the Medicinal and Ritual Use of Chocolate. Journal of Nutrition. Vol 130 pp 2057-2072
- Ding, E. L.; Hutfless, S.M.; Ding X.; Girotra, S. (2006) Chocolate and prevention of cardiovascular disease: a systematic review. Nutrition & Metabolism. Vol 3 (2) DOI: 10.1186/1746-7075-3-2
- Ducke, A. (1953) On the Brazilian Theobroma species. Bol. Tecn. Inst. Agron. Norte. Vol 28 pp 3-20
- End, M. (2006) New EU regulation on maximum residue levels of pesticides in food: minimising the impact on the cocoa sector. 15th International Cocoa Research Conference, 9-14 October San José, Costa Rica.
- Eskes, A.B.; Lanaud, C. (2001) Cocoa. In: Tropical Plant Breeding. Charrier, A.; Jacquot, M.; Hamon, S.; Nicolas, D. (eds), CIRAD, Frankreich. pp 78-105
- Eskes, A.B. (2004) Synthesis and Conclusions of the INGENIC Workshop on “Cocoa Breeding for Improved Production Systems” held October 19-21, 2003 at the Miklin Hotel, Accra, Ghana. Ingenic Newsletter. Vol 9 pp 2-7
- EU-Verordnung EC Nr. 396/2005 des Europäischen Parlaments und Rates vom 23. Februar 2005 über Höchstgehalte an Pestizidrückständen in oder auf Lebens- und Futtermitteln pflanzlichen und tierischen Ursprungs und zur Änderung der Richtlinie 91/414/EWG des Rates
- FAOSTAT (2007) Official Database of the Food and agriculture organisation of the United Nations: http://www.fao.org/waicent/portal/statistics_en.asp
- Flament, I. (1989) Coffee; cocoa and tea. Food Reviews International. Vol 5 (3) pp 317-414
- Figueira, A.; Janick, J.; BeMiller, J. N. (1993) New products from Theobroma cacao: seed pulp and pod gum. New crops. Proceedings of the Second National Symposium: New crops, exploration, research and commercialization, Indianapolis, Indiana, Janick-J (ed.); Oktober 6-9, 1991. pp 475-478
- Forsyth, W.G.C. (1952) Cacao polyphenolic substances 2. Changes during fermentation. Biochemical Journal (London). Vol 51 pp 516-520
- Foubert, I.; Vanrolleghem, P.A.; Thas, O.; Dewettinck, K. (2004) Influence of Chemical Composition on the Isothermal Cocoa Butter Crystallization. Journal of Food Science. Vol 69 (9) pp E478-487
- Fowler, M.S. (1995) Quality for cocoa powder producers. Seminar Proceedings, Cocoa Meeting, Montpellier. pp 147-153
- Fowler, M.S. (1994) Fine or flavour cocoas: current position and prospects. Cocoa Growers' Bulletin. Vol 48 pp 17-23
- Franke, G.; Pfeiffer, A. (1964): KAKAO. Die neue Brehm-Bücherei, A. Ziemsen Verlag, Wittenberg Lutherstadt
- Frauendorfer, F.; Schieberle, P. (2006) Identification of the key aroma compounds in cocoa powder based on molecular sensory correlations. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol 54 (15) pp 5521-5529

- Glendinning, D.R. (1963) The inheritance of bean size, pod size and number of beans per pod in cocoa (*Theobroma cacao* L.) with a note on bean shape. *Euphytica*. Vol 12 (3) pp 311-322
- Griffiths, G.; Harwood, J.L. (1991) The regulation of triacylglycerol biosynthesis in cocoa (*Theobroma cacao*) L.. *Planta*. Vol 184 (2) pp 279-284
- Hammerstone, J.F.Jr.; Romanczyk, L.J.Jr.; Aitken, M. (1994) Purine alkaloid distribution within *Herrania* and *Theobroma*. *Phytochemistry*. Vol 35 (5) pp 1237-1240
- Hansen, C.E.; Olmo, M. del; Burri, C. (1998) Enzyme activities in cocoa beans during fermentation. *Journal of the Science of Food & Agriculture*. Vol 77 pp 273-281
- Hashim, P.; Selamat, J.; Muhammad, S.K.S.; Ali, A. (1998) Changes in Free Amino Acid, Peptide-N, Sugar and Pyrazine Concentration during Cocoa Fermentation. *Journal of the Science of Food & Agriculture*. Vol 78 pp 535-542
- Heinzler, M.; Eichner, K. (1991) Verhalten von Amadori-Verbindungen während der Kakaoberarbeitung. 1. Bildung und Abbau von Amadori-Verbindungen. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*. Vol 192 pp 24-29
- Holden, M. (1959) The processing of raw cocoa. III - Enzymic aspects of cocoa fermentation. *Journal of the Science of Food & Agriculture*. Vol 10 (12) pp 691-700
- Hollenberg, N.K. (2000) Potential heart health benefits of cocoa polyphenols. In: chocolate, antioxidants, polyphenols and cardiovascular health. XXII Congress of the european society of cardiology, August 2000, Amsterdam, Niederlande. pp 4-7
- Hullot, O. (1996) Quality for traders. Cocoa meetings, The various aspects of quality. Seminar Proceedings, June 30, 1995, CIRAD, Montpellier, France. pp 135-146
- Humphires, E.C. (1944) Report Cocoa Research (Trinidad). Imperial College of Tropical Agriculture, St Augustine, Trinidad, pp 23-27 zitiert in Lopez, A. S.; Dimick, P. S. (1991) Enzymes involved in cocoa curing. In *Food Enzymology* (Vol 2) eds Fox. PF. Elsevier Science Publisher LTD London.
- Hurst, W. J.; Tarka, S.T.; Powis, T.G.; Valdez, F.; Hester, T.R. (2002) Archaeology: Cacao usage by the earliest Maya civilization. *Nature Brief Communication*. Vol 418 pp 289-290
- ICA (International Confectionary Association; formerly ICCO International Office of Cocoa, Chocolate and Sugar Confectionery): (1996): Analytical Method 42 –120/1993 reprint 1996 -: Determination of the free fatty acid (FFA) content of cocoa fat as a measure of cocoa nib acidity.
- ICA (International Confectionary Association; formerly ICCO International Office of Cocoa, Chocolate and Sugar Confectionery): (1972) Analytische Methode Blatt 8a IOCCC 14 – D/1972: Determination of total fat in cocoa product (HC hydrolysis method) (Weibull-Stoldt)
- ICA (International Confectionary Association; formerly ICCO) Secretariat (2000): Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics 1-71, ICCO, London.
- ICGD (2007) International Cocoa Germplasm Database, University of Reading, Online Version [<http://www.icgd.rdg.ac.uk/index.php>]
- Jardine, N.J. (1999): Phytochemicals and Phenolics. In: Knight, I., *Chocolate and Cocoa: Health and Nutrition*, Blackwell. pp 119-142.
- Jinap, S.; Saari, N.; Bakar, J. (2002a) Activation of remaining key enzymes in dried under-fermented cocoa beans and its effect on aroma precursor formation. *Food Chemistry*. Vol 78 (4) pp 407-417
- Jinap, S.; Bakar, J.; Saari, N. (2002b) Oxidation of polyphenols in unfermented and partly fermented cocoa beans by cocoa polyphenol oxidase and tyrosinase. *Journal of the Science of Food & Agriculture*. Vol 82 pp 559-566
- Jinap, S.; Danker, R.M. (1993) Effect of Clone and Temperature on Acetic Acid diffusion and Death of Cocoa Beans. *ASEAN Food Journal*. Vol 8 (4) pp 139-143
- Jinap, S.; Dimick, P.S. (1990) Acidic Characteristics of fermented and dried cocoa beans from different countries of origin. *Journal of Food Science*. Vol 55 (2) pp 547-550

- Jinap, S.; Thien, J.; Yap, T.N. (1994) Effect of drying on acidity and volatile fatty acids content of cocoa beans. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol 65 (1) pp 67-75
- Jinap, S. (1995) *Cocoa Beans: Chemical Composition and Changes during Processing*. University of Obihiro, Japan 16th March 1995, OASERD.
- Kakaobohnenprüfung (1951) D. Diekmann, B. Biehl, 2. Aufl. Verlag Gordian-Max Rieck GmbH (1962), Hamburg
- Kealy, K.S.; Snyder, R.M.; Romancyk, L.J.; Geyer, H.M.; Myers, M.E.; Withcare, E.J.; Hammerstone, J.R.; Schmitz, H.H. (1998) cocoa Components, Edible Products having enhanced polyphenol content, methods of making same and medical uses. Patent cooperation Treaty (PCT) WO 98/095533, USA, MARS INCORPORATED
- Kickartz, E.; Schartmann, B.; Sacher, H. (1987) Der Puringehalt des Rohkakaos in Abhängigkeit vom Kakabohnengewicht. *Lebensmittelchemie und Gerichtliche Chemie in der Gesellschaft Deutscher Chemiker*. - Weinheim : Verl. Chemie. Vol 41 pp 130-132
- Kim, H.; Keeney, P.G. (1984) (-)-Epicatechin content in fermented and unfermented cocoa beans. *Journal of Food Science*. Vol 49 (4) pp 1090-1092
- Kirchhoff, P.M. (1993) Untersuchungen zur Bildung aromawirksamer Aminosäuren und Peptide aus vakuolären Proteinen durch Proteolyse in Kakaosamen während der Fermentation. *Dissertationsschrift, TU-Braunschweig*. pp 1-218
- Kirchhoff, P.M.; Biehl, B.; Crone, G. (1989): Peculiarity of the Accumulation of Free Amino Acids during Cocoa Fermentation. *Food Chemistry*. Vol 31 pp 295-311.
- Lachenaud, P.; Mossu, G. (1985) Comparative study of the influence of two methods of management on the production factors of a cocoa farm. *Café Cacao Thé*. Vol 29 (1) pp 21-30
- Lanaud, C. (1987) New information on the biology of cacao (*Theobroma cacao*): diversity of populations, incompatibility systems, spontaneous haploids. Their consequences for the breeding of the species. *Thèse, Université de Paris Sud (Orsay)*. pp 1-262
- Laurent, V., Risterucci, A.M.; Lanaud, C. (1994a) RFLP study of genetic diversity of *Theobroma cacao*. *Angewandte Botanik*. Vol 68 (1) pp 36-39
- Laurent, V.; Risterucci, A.M.; Lanaud, C. (1994b) Genetic diversity in cocoa revealed by cDNA probes. *Theoretical and Applied Genetics*. Vol 88 (2) pp 193-198.
- Lenci, C.G. (2002) Tese (Mestre em Alimentos e Nutrição) Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, pp 101 zitiert in: Marini, M. H.; Lenci, C. G.; Tavares, D. Q. (2003) The structure and localization of reserves in cotyledons of seeds from *Theobroma grandiflorum* Schum., *Theobroma subincanum* Mart. and *Theobroma bicolor* H.B.K.
- Lieberei, R. (1998) Die genetischen Ressourcen der Nutzpflanze *Theobroma cacao* L. (Kakao - Nutzungsmöglichkeiten und Forschungsbedarf). *Zucker- und Süßwaren Wirtschaft*. Vol 35 827 pp 64-67
- Lieberei, R.; Rohsius, C. (2003) *Cocoa Atlas 2002* (deutsch: *Cacao Atlas 2002*). Stiftung der deutschen Kakao- und Schokoladen-Wirtschaft (ed) 1st. edn. dresenfunke pr/kommunikation produktion gmbH, Leverkusen CD-Rom 3-9808866-0-3
- Liebert, M., Licht, U., Böhm, V., Bitsch, R. (1999): Antioxidant properties and total phenolics content of green and black tea under different brewing conditions. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*. Vol 208 pp 217-220
- Lockwood, R. (2006) Cocoa breeding is profitable, Ghana as a case study. 5th INGNIC Workshop on Cocoa Breeding for Farmers`needs, San José, Costa Rica. pp 17
- Lopez, A.S. (1983) Factors associated with cacao bean acidity and the possibility of its reduction by improved fermentation. *Revista Theobroma*. Vol 13 (3) pp 233-248
- Lopez, A.S. (1979) Fermentation and organoleptic quality of cacao as affected by partial removal of pulp juices from the beans prior to curing. *Revista Theobroma (Brazil)*. Vol 9 pp 25-37
- Lopez, A.S.; Dimick, P.S. (1991) Enzymes involved in cocoa curing. In: *Food Enzymology (Vol 2)* eds Fox. PF. Elsevier Science Publisher LTD London.

- Marcano, M.; Pugh, T.; Cros, E.; Morales, S.; Portillo Páez, E.A.; Courtois, B.; Glaszmann, J.C.; Engels, J.M.M.; Phillips, W.; Astorga, C.; Risterucci, A.M.; Fouet, O.; González, V.; Rosenberg, K.; Vallat, I.; Dagert, M.; Lanaud, C. (2007) Adding value to cocoa (*Theobroma cacao* L.) germplasm information with domestication history and admixture mapping. *Theoretical and Applied Genetics*. Vol 114 (5) pp 877-884
- Mars Patent Polyphenole nr. 16 zitiert in Schwan *et al.*, 2004
- Matissek, R. (1998) Methylxanthine in Kakao. Eine Übersicht in drei Teilen. Teil I: Grundlagen, Vorkommen, Einflüsse auf Gehalt und Zusammensetzung. *Süßwaren*. Vol 42 (3)
- Methode Nr. 3.6 Bestimmung des Gehaltes an Feuchtigkeit und flüchtigen Bestandteilen in Ölsaaten. In: *Methodenbuch Band III* (1976): C. Naumann, R. Bassler; R. Seibold, C. Barth. (Hrsg.). Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten. VDLUFA-Verlag, Darmstadt 1997, 4. Ergänzungslieferung.
- Methode Nr. 4.1.1 Bestimmung von Rohprotein, Amtliche Methode. In: *Methodenbuch Band III* (1976): C. Naumann, R. Bassler; R. Seibold, C. Barth. (Hrsg.). Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten. VDLUFA-Verlag, Darmstadt. 1997, 4. Ergänzungslieferung.
- Meursing, E.H. (1995) Der Feuchtigkeitsgehalt von Kakaobohnen während der Lagerung. *Zucker- und Süßwaren Wirtschaft*. Vol 9 pp 340-343
- Meyer, B.; Biehl, B.; Said, M.B.; Samarakoddy, R.J. (1989) Post-harvest pod storage: a method for pulp preconditioning to impair strong nib acidification during cocoa fermentation in Malaysia. *Journal of the Science of Food & Agriculture*. Vol 48 pp 285-304
- Meyer, H. (1975): Versuche zum Nachweis von Polyphenoloxidasen (Diphenol: O₂ Oxidoreductasen) in submersen Algen. Hausarbeit, TU-Braunschweig.
- Miller, N.J.; Rice-Evans, C.; Davies, M.J.; Gopinathan, V.; Milner, A. (1993): A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*. Vol 84 pp 407-412
- Mohr, W.; Landschreiber, E.; Severin, T. (1976) On the specificity of cocoa aroma. *Fette Seifen Anstrichmittel*. Vol 78 pp 88-95.
- Motamayor, J.C.; Risterucci, A.M.; Laurent, V.; Moreno, A.; Lanaud, C. (2000) The genetic diversity of Criollo cacao and its consequence in quality breeding. *Memorias del Primer Congreso Venezolano del Cacao y su Industria* ISBN 980-620-56-1. pp 1-17
- Müller, S. (1998) Histologische und cytologische Studien an Samen von *Theobroma*-Arten. Diplomarbeit, Universität Hamburg.
- Müller, S.; Rohsius, C.; Reisdorff, C.; Gasparotto, L.; Lieberei, R. (2000) Anatomical and physiological characteristics of *Theobroma spec.* Seeds and their relevance to processing. *Proceedings of the 13th International Cocoa Res Conf.*, Kota Kinabalu, Malaysia. Poster (51)
- Niemenak, N.; Rohsius, C.; Elwers, S., D., Omokolo Ndoumou; Lieberei, R. (2006) Comparative study of different cocoa (*Theobroma cacao* L.) clones in terms of their phenolics and anthocyanins contents. *Journal of Food Composition and Analysis*. Vol 19 pp 612-619
- Nuyken-Hamelmann, C. (1986) Quantitative Bestimmung der Hauptsäuren des Kakaos. *Dissertationsschrift, Naturwiss. Fakultät. Braunschweig*. pp 1-107
- Nganhou, J.; Bénet, J.C.; Augier, F.; Berthomieu, G.; Njomo, D. (2003) Perfecting a method of micro-analysis of water and acetic acid in a cocoa bean in the course of drying: applying to determine transportation coefficients. *Heat and Mass Transfer*. Vol 39 pp 797-803
- N'Goran, J.A.K.; Laurent, V.; Risterucci, A.M.; Lanaud, C. (1994) Comparative genetic diversity studies of *Theobroma cacao* L. using RFLP and RAPD markers. *Heredity*. Vol 73 (6) pp 589-597
- Neier, S.; Burkhardt, G.H.; Matissek, R. (1999) Zur Zusammensetzung von Rohkakao in Abhängigkeit vom Kakaobohnengewicht. *Süßwaren*. (10) pp 20-21
- Ney, K.H. (1992) Cocoa Off-Flavors - Fehlgerüche von Kakao. *Off - Flavors in Foods and Beverages* (Series: Developments in Food Science) Editor: G Charalambous. Vol 28 pp 419-432

- Opoku, S.Y.; Kolesnikova, A.; Asante, E.G., Adu-Ampomah, Y. (2006) Genetic diversity and profile of planting materials in Ghana cocoa farms, 5th INGENIC Workshop on Cocoa Breeding for Farmers' needs, San José, Costa Rica. pp 17
- Osakabe, N.; Baba, S.; Yasuda, A.; Iwamoto, T.; Kamiyama, M.; Takizawa, T.; Itakura, H.; Kondo, K. (2001) Daily cocoa intake reduces the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidation as demonstrated in healthy human volunteers. *Free Radical Research*. Vol 34 (1) pp 93-99
DOI: 10.1080/10715760100300091
- Oyeniran (1976), 7.0 Techn. Rep. 1, Nigerian Stored Products res. Ins. pp 31-37 zitiert in Meusing (1995)
- Parra, P.G. (2000) Origen del cacao en Venezuela. Memorias del Primer Congreso Venezolano del Cacao y su Industria. Fundacite, Aragua. pp 257-261
- Patel, V.K.; Shanklin, J.; Furtek, D.B. (1994) Changes in fatty-acid composition and stearoyl-acyl carrier protein desaturase expression in developing *Theobroma cacao* L. embryos. *Planta*. Vol 193 (1) pp 83-88
- Patino, V.M. (1963-1974) Cultivated plants and domesticated animals of tropical America. Imprenta Departamental, Cali, Colombia. Vol 1-4 pp 269-274, 279 zitiert in Wolters (1999)
- Paulin, D.; Eskes, A.B. (1995) Cocoa: breeding strategies. *Plantations, Recherche, Developpement*. Vol 2 (6) pp 5-18
- Paiva, M.; Janick, J. (1983) Variability of alkaloid production in *Theobroma cacao* L.. *Revista Theobroma*. Vol 13 pp 249-262
- Pokou, D. (2006) Genetic diversity of cocoa cultivated in farmers' fields in Côte d'Ivoire, including variation for resistance to Phytophthora pod rot. 5th INGENIC Workshop on Cocoa Breeding for Farmers' Needs. San José, Costa Rica
- Porter, L.J.; Ma, Z.; Chan, B.G. (1991) Cacao Procyanidins: Major Flavanoids and Identification of some Minor Metabolites. *Phytochemistry*. Vol 30 (5) pp 1657-1663
- Quesnel, V.C.; Jugmohunsingh, K. (1970) Browning reaction in drying cacao. *Journal of the Science of Food & Agriculture*. Vol 21 pp 537-541
- Reisdorff, C.; Claret de Souza, A.d.G.; Rohsius, C.; Lieberei, R. (2004): Comparative study on the proteolytic activities and storage globulins in seeds of *Theobroma grandiflorum* (Willd ex Spreng) Schum and *Theobroma bicolor* Humb Bonpl, in relation to their potential to generate chocolate-like aroma. *Journal of the Science of Food & Agriculture*. Vol 84 pp 693-700
- Richter, G. (1998): *Stoffwechselphysiologie der Pflanzen*. 6.- Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart: 69
- Rigaud, J.; Escribano-Bailon, M.T.; Prieur, C.; Souquet, J.M.; Cheynier, V. (1993) Normal-Phase high-performance liquid chromatographic separation of procyanidins from cacao beans and grape seeds. *Journal of Chromatography*. Vol 654 pp 255-260
- Rohr, G.E. (1999) Analytical investigation on and Isolation of Procyanidins from *Crateagus* Leaves and flowers. Dissertationsschrift, Swiss Federal Institute of Technology Zürich, Zürich, Switzerland.
- Rohsius, C.; Andersson, M.; Niemenak, N.; Sukha, D.; Lieberei, R. (2006) Fermentation quality and its dependence on the testa structure and transport processes. 15th International Cocoa Research Conference, 9-14 October San José, Costa Rica.
- Rohsius, C.; Matissek, R.; Lieberei, R. (2006) Free amino acid amounts in rwa cocoas from different origins. *European Food Research Technology*. Vol 222 pp 432-438
- Sanchez, J.; Guiraud, J. P.; Galzy, P. (1984) A study of the polygalacturonase activity of several yeast strains isolated from cocoa. *Appl Microbiol Biotechnol*. Vol 20 pp 262-267
- Schroeter, H.; Heiss, C.; Balzer, J.; Kleinbongard, P.; Keen, C.L.; Hollenber, N.K.; Sies, H.; Kwik-Uribe, C.; Schmitz, H.H.; Kelm, M. (2006) (-)-Epicatechin mediates beneficial effects of flavanol-rich cocoa on vascular function in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Vol 103 pp 1024-1029
DOI:10.1073/pnas.0510168103

- Schwan, R. F.; Wheals, A.E. (2004) The Microbiology of Cocoa Fermentation and its Role in Chocolate Quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Vol 44 (4) pp 205-221
- Schwan, R.F.; Rose, A.H.; Board, R.G. (1995) Microbial fermentation of cocoa beans, with emphasis on enzymatic degradation of the pulp. *Journal of Applied Bacteriology*. Vol 79 Suppl. pp 96-107
- Senanayake, M.; Janz, E.R.; Buckle, K.A. (1997) Effect of Different Mixing Intervals on the Fermentation of Cocoa Beans. *Journal of the Science of Food & Agriculture*. Vol 74 (1) pp 42-48
- Sies, H.; Schewe, T.; Heiss, C.; Kelm, M. (2005) Cocoa polyphenols and inflammatory mediators. *The American journal of clinical nutrition*. Vol 81 pp 304-312
- Shutov, A.D.; Do Ngok, Lanh; Vaitraub, I.A. (1982): Purification and partial characterization of protease B from germinating vetch seeds. *Biokhimiya*. 47 pp 814-821
- Stantschew, W. (1976) Schimmelpilze in Kakaobohnen. *Die Lebensmittel-Industrie*. Vol 23 (10) pp 459-460
- Stark, R.; Bareuther, S.; Hofmann, T. (2005a) Sensory-guided Decomposition of Roasted Cocoa nibs (*Theobroma cacao*) and Structure determination of taste-active polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol 53 pp 5407-5418
- Stark, R.; Bareuther, S.; Hofmann, T. (2005b) Structures, sensory activity, and dose/response functions of 2,5 Diketopipreazines in roasted cocoa nibs (*Theobroma cacao*) *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol 53 pp 7222-7231
- Stoll, L. (2005) Biochemische und enzymatische Charakterisierung unterschiedlicher Fermentationsstadien von Kakao (*Theobroma cacao* L.) Diplomarbeit, Fachbereich Biologie, Universität Hamburg
- Stoll, L.; Rohsius, C.; Niemenak, N.; Sukha, D.A.; Lieberei, R. (2006) Formation of the bitter tasting γ -aminobutyric acid (GABA) in the course of fermentation and germination processes. *Proceedings of the 15th International Cocoa Research Conference, 9-14 October San José, Costa Rica.* Poster Nr. 060
- Sukha, D.A.; Butler, D.R. (2005) Trends in flavour profiles of the common clones for the CFC/ICCO/INIAP Flavour Project. *Annual Report 2005 of the Cocoa Research Unit (The University of the West Indies)*. pp 55-61
- Sukha, D.A.; Butler, D.R.; Amores, F.; Jiménez, J.C.; Ramos, G.; Gomez, A.; Zambrano, A.; Hollywood, N.; Ravushiro, J. (2006) The CFC/ICCO/INIAP cocoa project “To establish the physical, chemical and organoleptic parameters to differentiate between fine and bulk cocoa”- some highlights from the organoleptic component. *Proceedings of the 15th International Cocoa Research Conference, 9-14 October San José, Costa Rica.* (oral Presentation) Nr. 188
- Théry, V. (1995) Quality for cocoa powder producers. *Seminar Proceedings, Cocoa Meeting, Montpellier*. pp 155-157
- Timbie, D.J. (1977) Studies on the protein and purine alkaloids of cocoa beans. *Dissertationsschrift The Penn. State University, USA*.
- Timbie, D.J.; Sechrist, L.; Keeney, P.G. (1978) Application of high-pressure liquid chromatography to the study of variables affecting theobromine and caffeine concentrations in cocoa beans. *Journal of Food Science*. Vol 43 pp 560-565
- Tomlins, K.I.; Baker, D.M.; McDowell, I.J. (1990): HPLC Method for the Analysis of Organic Acids, Sugars, and Alcohol in Extracts of Fermenting Cocoa Beans. *Chromatographia*. Vol 29 (11/12) pp 557-561
- Voigt, J.; Biehl, B.; Heinrichs, H.; Kamaruddin, S.; Gaim Marsoner, G.; Hugi, A. (1994) In-vitro formation of cocoa-specific aroma precursors: aroma-related peptides generated from cocoa seed protein by co-operation of an aspartic endoprotease and a carboxypeptidase. *Food Chemistry*. Vol 49 pp 173-180
- Voigt, J.; Kamaruddin, S.; Heinrichs, H.; Wrann, D.; Senyuk, V.; Biehl, B. (1995) Developmental stage-dependent variation of the levels of globular storage protein and aspartic endoprotease

- during ripening and germination of *Theobroma cacao* L. seeds. *Journal of Plant Physiology*. Vol 145 (3), pp 299-307
- Wintgens, J.N. (1992) Factors influencing the quality of cocoa beans. Reprint from *Technical Communications 2/92*, Nestec S.A., Vevey, Schweiz. pp 23-34
- Wollgast, J.; Anklam, A. (2000a) Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*. Vol 33 pp 423-447
- Wollgast, J.; Anklam, A. (2000b) Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health? *Food Research International*. Vol 33 pp 449-459
- Wollgast, J. (2004) The contents and effects of polyphenols in chocolate. *Dissertationsschrift*, Universität Gießen pp 332
- Wolters, B. (1999) Zur Verbreitungsgeschichte und Ethnobotanik indianischer Kulturpflanzen, insbesondere des Kakaobaumes. *Journal of Applied Botany*. Vol 73 pp 128-137
- Wood, G.A.R.; Lass, R.A. (1989) *Cocoa*. Reprinted. - Harlow: Longman Scientific & Technical [u.a.]. pp 1-620
- Wright, D.C.; Park, W.D.; Leopold, N.R.; Hasegawa, P.M.; Janick, J. (1982) Accumulation of Lipids, Proteins, Alkaloids and Anthocyanins during Embryo Development in vivo of *Theobroma cacao* L.. *The journal of the American Oil Chemists' Society*. Vol 59 (11) pp 475-479
- Ziegleder, G.; Biehl, B. (1988): Analysis of cocoa flavour components and flavour precursors. In: H. F. Linskens and J. F. Jackson (eds.); *Modern Methods of Plant analysis*, Band 8, *Analysis of Non-alcoholic Beverages* (Springer-Verlag Berlin Heidelberg 1988) pp 321-393
- Ziegleder, G. (1990) Linalool contents as characteristic of some flavor grade cocoas. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*. Vol 191 (4-5) pp 306-309

9 Danksagung

Mein allererster Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. Reinhard Lieberei.

Mit welcher neuen Kakao-Idee ich auch gekommen bin, das Koordinatenkreuz der multivariaten Faktoren wurde von meinem Mentor immer so zurechtgerückt, dass die Punktwolken sich zu identifizierbaren Gruppen sortierten. Ruhig, konzentriert und meist humorvoll wurde ich aus dem Dickicht der Einzelwerte hingeführt zur Perspektive des Ganzen. Geduldig wartete er auf die Abgabe dieser Arbeit. Vielen Dank für die vielen inhaltlichen Anregungen, die Unterstützung, das Vertrauen und die Möglichkeit über den Rand der gemäßigten Breiten hinwegzuschauen!

Mein besonderer Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. Dirk Selmar für die Übernahme des Korreferates.

Auch möchte ich Herrn Prof. Dr. Böle Biehl für Themen- und Ideenimpulse danken. Bereits seit den 50er-Jahren hat Herr Biehl hier in Hamburg an Kakao geforscht. Der Cocoa Atlas 2002 stellt im Grunde die Wiederauflage einer seiner Veröffentlichungen dar: der Kakaobohnenprüfung 1961/62, die Herr Prof. Dr. Biehl mitverfasst hat. 40 Jahre Kakaoforschung liegen dazwischen. In diesen 40 Jahren hat Herr Biehl maßgeblich die Forschung an Aromavorstufen, Ansäuerungsprozessen, Fermentationsmethoden, strukturellen Gegebenheiten der Kotedonen und vielen anderen Kakao bezogenen Fragestellungen geprägt. Kein Kakao-, Cocoa-, oder Cacao-Artikel, in dem nicht eine seiner vielen Publikationen Erwähnung findet.

Für die Bereitstellung der Proben, die Besichtigung von Lagerhäusern und Schiffsladungen sowie der vielen Informationen über den Hamburger Handel möchte ich mich beim Hamburger Rohkakaohandel bedanken. Mein besonderer Dank gilt dabei der Firma Quast und Consorten (Herr Harms) und der Firma Schlüter und Maack (Herr Sperling).

Weiterhin möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Mattisek und seinen Mitarbeitern aus dem Lebensmittelchemischen Institut in Köln für die gute Zusammenarbeit im Rahmen der Kakaobohnenprüfung und für die inhaltliche Unterstützung bedanken.

Herrn Darin Sukha und Herrn David Butler (CRU, Trinidad) danke ich für die gute Zusammenarbeit und für die Bereitstellung vieler Kakaofrüchte und der fermentierten Kakaosamen. Darin danke ich besonders dafür, dass er immer zur rechten Zeit in der gleichen Phase wie ich steckte. Es tat gut zu wissen, dass es am anderen Ende der Welt eine Person gibt, die sich in einer ähnlichen Situation befindet. Ich wünsche ihm eine erfolgreiche „post-doc“ Zeit in Trinidad!

Alexandro Zembrano und Glady de S. Ramos (INIA, Venezuela) möchte ich für die Bereitstellung der Edelkakaoproben aus Venezuela danken.

Ein besonderes Dankeschön gebührt den Fehlerteufel-Jägern und Jägerinnen:

Vielen Dank an Helmut Kassner, der mir auch sonst bei jeder Frage behilflich war und für manch fröhliche Minute gerade in der Endphase dieser Arbeit sorgte.

Ein besonderes Dankeschön, mit Kußhand und Knicks, geht an Sabine Schlimm: Danke! Bitte entschuldige, sollte ich die ein oder andere Korrektur überlesen haben.

Vielen Dank auch an Karen Baumann, die mir nicht nur während der Schreibphase so manches Mal hilfreich zur Seite stand, sondern auch bei der Durchführung der DGGE-Analysemethode.

Auch Maren Wodrich danke ich für viele Hinweise, Diskussionen und Teepausen.

Mein Dank geht auch an Silke Elwers für unendlich viele produktive und heitere Stunden in dem ein oder anderen Container, möge auch deine Arbeit bald beendet sein!

Außerdem möchte ich mich auch bei allen Kolleginnen und Kollegen der Arbeitsgruppe Lieberei für die hervorragende Arbeitsatmosphäre bedanken. Insbesondere Detlef Böhm, der mir immer bei labortechnischen und organisatorischen Fragen zur Seite stand und Thomas Tumforde, der mich in die Geheimnisse „seiner“ HPLC-Anlage eingewiesen hat.

Christoph Reisdorff danke ich für die Ermutigung, meine Diplomarbeit in Brasilien durchzuführen. Eine Entscheidung, die ich nie bereut habe. Außerdem bedanke ich mich für die vielen Anregungen und Gespräche. Auch hätten mir, ohne den einen oder anderen Kaffee-Euro, nebst mitgelieferter Begleitung, die langen Tage im Labor deutlich weniger Spaß gemacht. Vielen Dank auch für die Einweisung in „Statistica“ und in diverse statistische Methoden!

Ich bin an dieser Arbeit gewachsen, durch die Projektarbeit, die Auslands-Erfahrungen, Konferenzen und manch andere Anforderungen. In jeder Situation zur Seite stand mir dabei Barbara Dickhaus, der ich hiermit für all die Unterstützung danke.

Niemand reicht jedoch an die Geduld und Unterstützung heran, die mir Henrik Masekowitz in dieser Zeit entgegengebracht hat: Danke! Auf dass ich bald wieder mit dir segeln kann.

Vielen Freunden, Bekannten und Verwandten, die mir auch geholfen haben, hier aber unerwähnt blieben, sei an dieser Stelle auch gedankt.

Meiner Familie danke ich für das Verständnis, die Unterstützung, Bestätigung und die Geduld, die sie mit mir hatte – wie groß sind wohl bloß die Nichten und Neffen schon?

Die Arbeit stellt u. a. die Ergebnisse des Projektes „Kakaobohnenprüfung 2000“, gefördert durch die Stiftung der deutschen Schokoladen Industrie sowie Ergebnisse des Projektes „Charakterisierung chemischer Indikatoren in Rohkakao unterschiedlicher Fermentationsstadien“ (AiF-FV-Nr. 14491-N) gefördert aus Haushaltsmitteln des Bundesministeriums für Wirtschaft und Technologie (BMWi) über die Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigungen „Otto-von-Guericke“ e.V. (AiF) dar.

10 Anhang

Tab. 19 Kennwerte der Ergebnisse aus Kapitel 4.1.2 bis 4.1.7.4 (Mittel-, Minimum- und Maximumwerte)

Ausgenommen sind die Werte der Proben Bra 1 und Bra 2 (*T. grandiflorum*)

* Angaben in mg g⁻¹ fTM; ** Angaben in µmol Troloxäquivalenten (100 mg g⁻¹ fTM mL⁻¹)⁻¹

	Mittelwert	Median	Min.	Max.	Stabw.	n
<i>schiefrige</i> Samen [%]	2,03	0,67	0,00	48,00	5,17	120
<i>insektenbefallene</i> Samen [%]	0,59	0,17	0,00	6,33	1,10	120
<i>schimmelige</i> Samen [%]	3,53	1,67	0,00	35,00	5,41	120
<i>violette</i> Samen [%]	6,41	4,33	0,00	26,33	5,62	120
<i>braun-violette</i> Samen [%]	5,28	4,33	0,00	27,00	5,13	120
<i>weiße</i> Samen [%]	10,10	4,67	0,00	78,33	14,01	120
<i>gekeimte</i> Samen [%]	0,29	0,00	0,00	4,67	0,52	120
<i>violettgesamt</i> Samen [%]	11,69	10,00	0,00	53,33	9,36	120
<i>fermentierte</i> Samen [%]	86,28	88,83	37,33	100,00	11,24	120
Radikula [g]	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	120
Testa [g]	0,14	0,14	0,10	0,20	0,02	120
Kotyledonen [g]	0,94	0,94	0,51	1,54	0,13	120
Samengewicht [g]	1,10	1,09	0,56	1,71	0,15	120
Radikula [%]	0,80	0,81	0,57	1,03	0,07	120
Testa [%]	13,12	12,77	8,50	16,68	1,55	120
Kotyledonen [%]	86,08	86,41	82,42	90,83	1,56	120
100-Bohnenzahl	94,50	94,33	58,33	188,00	13,87	120
pH-Wert	5,58	5,63	4,71	6,30	0,39	120
Wassergehalt [%]	6,07	6,07	4,00	7,88	0,73	120
Coffeingehalt*	3,45	2,91	0,96	8,27	1,69	120
Theobromingehalt*	28,02	29,20	18,20	35,09	4,37	120
T/C-Verhältnis	10,38	9,91	2,65	34,97	5,85	120
Stickstoffgehalt*	52,16	52,26	44,42	58,98	2,92	120
Rohproteingehalt*	265,29	264,39	225,85	294,52	13,90	120
Catechingehalt*	0,21	0,18	0,05	0,84	0,12	117
Epicatechingehalt*	7,33	6,31	0,96	24,57	4,05	120
Gesamtphenolgehalt*	88,17	88,48	44,63	139,46	19,68	120
Antioxidatives Potenzial**	3,85	3,71	1,32	7,23	1,26	120
Fettgehalt [%] IOCC-Methode	52,44	52,60	47,80	57,20	1,93	120
Fettgehalt [%]	56,84	57,03	49,85	60,90	2,19	120
Säurezahl	2,75	1,79	0,40	27,20	3,20	120
FFA [%]	1,38	0,90	0,20	13,70	1,61	120
Diglyceride [%]	0,98	0,90	0,30	2,70	0,35	120
sonstige FSME	24,41	0,00	0,00	101,00	43,42	120
POP-Triglyceride [%]	18,79	18,50	15,90	24,30	1,30	120
POS-Triglyceride [%]	47,78	47,70	46,00	49,20	0,58	120
SOS-Triglyceride [%]	33,44	33,55	27,20	37,10	1,67	120
Essigsäuregehalt*	8,73	7,25	2,00	23,50	5,24	120
Milchsäuregehalt*	17,89	17,70	9,60	28,80	3,84	120
Σ Essig- + Milchsäuregehalt*	26,62	25,00	12,80	49,70	8,33	120
Asparaginsäuregehalt*	0,46	0,45	0,14	0,89	0,17	108
Glutaminsäuregehalt*	1,24	1,25	0,52	1,89	0,29	108
Asparagingehalt*	0,94	0,91	0,40	1,95	0,31	108
Seringehalt*	0,39	0,39	0,10	0,87	0,16	108
Glycingehalt*	0,17	0,14	0,00	0,60	0,11	108
Threoningehalt*	0,42	0,40	0,14	0,95	0,17	108
Arginingehalt*	0,89	0,80	0,23	2,03	0,42	108
Alaningehalt*	1,37	1,30	0,49	3,62	0,60	108
Tyrosingehalt*	0,88	0,87	0,36	1,53	0,29	108
Valingehalt*	1,03	0,99	0,41	1,96	0,32	108
Phenylalaningehalt*	1,65	1,63	0,47	3,36	0,63	108
Isoleucingehalt*	0,69	0,67	0,30	1,30	0,20	108
Leucingehalt*	2,03	1,93	0,62	3,91	0,78	108
Lysingehalt*	0,84	0,68	0,12	3,08	0,55	104
GABA-Wert	9,10	8,35	2,88	24,59	3,72	108
Tryptophangehalt*	0,08	0,09	0,00	0,24	0,07	83
Methioningehalt*	0,01	0,00	0,00	0,41	0,05	82
Histidin+Glutamin*	0,13	0,13	0,00	0,28	0,07	108
„hydrophobe“ FAA*	7,57	7,33	2,85	14,87	2,76	110
„saure“ FAA*	2,74	2,73	1,09	4,56	0,72	110
„andere“ FAA*	2,71	2,40	0,76	6,88	1,37	110
FAA-Gesamtgehalt*	13,02	12,45	4,99	25,22	4,70	110

Tab. 20 Kennwerte der Ergebnisse aus Kapitel 4.1.6 (Mittel-, Minimum- und Maximumwerte der Fettsäuren)
Werte ausgegeben als Anteil an Gesamtfettsäuren in %

Fettsäure		Mittel	Median	Min.	Max.	Stabw.	n
Myristinsäure	C 14	-	0,10	0,10	-	-	120
13-Methyltetradecansäure	C 15	0,05	0,00	0,00	0,05	0,01	120
Palmitinsäure	C 16	26,13	26,10	23,90	30,70	1,05	120
Magarinsäure	C 17	0,20	0,20	0,10	0,30	0,03	120
Stearinsäure	C 18	35,62	35,80	31,20	38,90	1,40	120
Arachinsäure	C 20	1,04	1,00	0,80	1,30	0,09	120
Behensäure	C 22	0,18	0,20	0,10	0,20	0,04	120
Lignocerinsäure	C 24	0,10	0,10	0,10	0,20	0,01	120
Palmitoleinsäure	C 16:1	0,28	0,30	0,20	0,40	0,05	120
delta-9-cis-Heptadecensäure	C 17:1	0,04	0,05	0,00	0,05	0,02	120
Ölsäure	C 18:1	33,35	33,00	31,40	38,50	1,28	120
Icosensäure	C 20:1	0,06	0,05	0,00	0,10	0,08	120
Linolsäure	C 18:2	2,89	2,90	2,10	4,10	0,39	120
Linolensäure	C 18:3	0,18	0,20	0,10	0,20	0,04	120

Tab. 21 Einzelwerte der Proben: Säurewerte, phenolische Substanzen, Stickstoff- und Rohproteingehalt
* Angabe in mg g⁻¹ fTm; ** Angabe in µmol Troloxäquivalenten (100 mg g⁻¹ fTm mL⁻¹)⁻¹

	Probennummer	pH-Wert	Wassergehalt [%]	Essigsäuregehalt*	Milchsäuregehalt*	Coffeingehalt*	Theobromingehalt*	T/C-Verhältnis	Stickstoffgehalt*	Rohproteingehalt*	Catechingehalt*	Epicatechingehalt*	Gesamtphenol-gehalt*	Antioxidatives Potenzial**
Bra	1	5,67	6,33	7,40	18,70	-	-	-	48,87	305,5	7,14	0,22	35,06	0,97
	2	5,86	7,25	5,10	13,30	-	-	-	47,77	298,5	5,91	0,24	40,76	1,08
	3	5,68	5,86	2,40	17,00	4,51	34,76	7,71	51,64	247,0	0,24	5,99	94,97	5,56
Dom	1	5,06	5,28	16,10	20,10	4,22	29,14	6,91	56,17	286,8	0,08	1,96	72,18	3,82
Ecu	1	5,78	6,68	7,20	17,30	5,51	26,82	4,87	54,32	277,4	0,19	7,99	66,51	3,09
	2	5,85	6,94	6,10	15,30	4,80	25,97	5,41	53,95	278,0	0,15	8,86	89,96	5,20
	3	6,01	7,34	4,90	14,40	6,46	27,87	4,32	53,85	270,7	0,19	11,14	96,87	4,32
	4	5,71	6,88	7,10	18,30	5,17	24,31	4,70	52,29	270,2	0,11	4,88	73,77	3,09
	5	4,76	6,54	23,50	19,70	2,17	20,44	9,42	45,55	241,1	0,39	10,33	103,48	4,06
	6	5,94	7,88	5,60	11,50	6,98	31,57	4,52	54,34	265,6	0,19	13,92	102,25	5,99
	7	5,64	5,51	7,70	13,40	6,53	30,75	4,71	53,22	261,1	0,38	14,89	119,59	5,86
	8	5,68	4,70	7,20	11,70	4,89	30,55	6,25	52,90	262,4	0,38	17,91	130,66	6,73
	9	5,84	6,72	5,20	10,50	7,83	33,97	4,34	54,06	257,7	0,22	19,94	138,59	7,23
	10	6,15	6,78	6,20	16,80	4,96	28,97	5,84	52,94	265,6	0,24	12,14	109,52	5,06
	11	6,09	6,56	3,70	13,40	6,09	31,40	5,15	55,57	275,3	0,13	10,60	93,00	5,21
	12	6,30	6,04	4,00	14,20	3,53	27,52	7,79	51,32	260,9	0,19	14,71	94,84	6,16
	13	5,73	6,60	6,10	17,50	6,57	32,01	4,87	58,98	294,5	0,31	19,34	121,80	5,81
	14	5,85	6,27	5,20	16,80	4,54	23,71	5,22	51,07	264,9	0,12	4,56	79,11	4,30
Elf	1	5,84	6,02	2,70	15,70	2,93	27,84	9,49	56,51	293,8	0,11	4,36	88,04	2,74
	2	5,77	6,63	2,90	14,40	2,55	29,75	11,65	56,72	292,0	0,11	4,97	76,40	2,75
	3	5,45	6,17	7,90	14,60	2,43	29,28	12,06	54,77	281,0	0,11	4,24	59,14	2,20
	4	5,52	6,12	7,00	17,00	2,39	28,34	11,88	50,87	258,6	0,17	5,69	77,25	2,97
	5	5,51	6,67	11,80	17,10	3,52	30,62	8,70	55,87	283,3	0,25	7,35	95,53	3,90
	6	5,45	7,39	9,80	18,70	2,15	26,43	12,28	54,17	283,3	0,17	5,17	75,72	2,50
	7	5,64	6,08	7,40	17,60	2,70	28,36	10,51	54,73	282,0	0,13	5,17	81,57	1,78
	8	5,67	7,46	5,50	16,70	2,59	29,26	11,28	53,62	273,6	0,11	5,58	78,23	3,61
	9	5,80	7,10	5,00	16,20	2,53	27,71	10,95	54,46	281,9	0,18	5,29	71,98	3,37
	10	5,78	7,35	7,10	19,20	2,49	28,55	11,47	55,76	288,5	0,09	4,37	78,86	2,98
	11	5,85	6,77	4,20	20,20	2,91	29,22	10,06	55,73	286,2	0,18	5,22	85,74	3,20
	12	5,83	5,84	5,30	21,10	2,83	30,69	10,84	55,62	282,9	0,16	4,93	66,01	3,82
	13	5,52	6,49	8,10	21,10	2,01	31,42	15,62	55,19	280,2	0,15	5,17	79,91	3,19
	14	5,90	6,71	4,90	16,50	2,89	28,70	9,94	55,01	282,8	0,13	6,10	84,49	4,04
	15	5,67	5,95	7,30	19,00	2,44	29,67	12,15	53,80	274,2	0,13	5,13	77,95	3,87
	16	5,77	5,73	5,90	20,30	2,81	29,84	10,61	56,30	288,8	0,13	5,16	93,74	4,08
	17	5,60	6,53	7,10	21,10	2,53	29,38	11,62	54,83	281,0	0,11	4,10	80,01	3,74
Gha	1	5,38	6,11	9,50	19,40	2,40	31,40	13,07	53,32	267,8	0,15	6,55	90,67	3,28
	2	5,48	6,87	6,70	19,80	2,85	29,77	10,43	56,08	287,4	0,14	5,02	90,50	4,21
	3	5,56	5,22	5,90	18,30	2,51	32,11	12,81	54,13	271,3	0,13	4,93	96,03	3,12
	4	5,46	5,52	9,30	19,50	2,08	31,36	15,09	55,72	283,5	0,14	7,14	86,05	3,15
	5	5,24	5,64	11,60	19,20	2,31	31,43	13,58	54,96	278,2	0,19	7,20	92,14	3,24
	6	5,35	5,21	10,10	18,60	2,75	28,93	10,52	56,64	292,8	0,17	8,07	93,25	4,91
	7	5,30	5,50	10,70	18,90	2,68	26,52	9,88	53,90	280,5	0,13	4,93	79,27	4,49
Hai	1	6,15	5,76	3,90	9,70	3,00	35,09	11,69	54,87	269,3	0,52	24,57	139,46	6,35
	2	6,00	6,44	3,50	10,70	2,33	33,38	14,34	54,24	269,9	0,36	13,19	123,65	6,25
	3	6,14	5,29	3,90	11,00	2,92	30,27	10,38	55,25	281,2	0,12	5,26	63,99	2,92
	4	6,05	4,95	3,20	9,60	3,01	34,38	11,43	55,11	272,2	0,25	11,84	120,78	6,62
Ind	1	5,75	5,53	7,20	19,60	3,30	31,21	9,44	57,29	291,4	0,19	6,38	98,13	3,14
	2	4,95	5,79	17,70	18,40	6,84	19,85	2,90	44,60	227,8	0,50	8,18	94,97	3,57
	3	5,08	5,45	14,30	18,80	7,15	24,13	3,38	47,32	236,0	0,56	9,24	111,58	2,80
	4	6,16	6,38	3,10	13,90	2,11	28,31	13,44	49,21	248,7	0,31	10,97	93,93	3,70
	5	4,94	5,63	21,10	18,90	8,27	21,90	2,65	45,34	225,8	0,71	8,15	104,85	4,10
	6	6,04	5,95	3,30	14,40	2,06	28,54	13,89	49,48	250,0	0,24	9,55	138,99	4,02
	7	5,08	4,88	21,60	23,30	2,76	20,61	7,47	49,20	262,5	0,38	4,59	90,11	3,68
	8	5,12	5,14	20,00	23,90	2,69	19,64	7,31	49,40	265,7	0,19	2,81	67,00	2,72
	9	5,08	5,00	19,60	21,10	2,42	18,57	7,69	47,83	258,5	0,12	1,90	46,13	2,48
	10	4,95	4,97	18,20	20,30	6,34	18,27	2,88	44,42	230,7	0,31	7,49	110,58	5,08
Kam	1	5,78	6,45	9,30	14,60	1,48	34,79	23,47	50,95	248,1	0,19	8,51	114,00	5,92
Lib	1	5,95	5,54	4,60	12,50	1,04	33,24	31,85	52,12	259,2	0,21	11,20	111,34	5,45
Mad	1	5,20	6,37	12,70	20,70	4,17	20,22	4,85	49,68	263,7	0,21	6,86	79,16	2,29

	Probennummer	pH-Wert	Wassergehalt [%]	Essigsäuregehalt*	Milchsäuregehalt*	Coffeingehalt*	Theobromingehalt*	T/C-Verhältnis	Stickstoffgehalt*	Rohproteingehalt*	Catechingehalt*	Epicatechingehalt*	Gesamphenol-gehalt *	Antioxidatives Potenzial**
Mad	2	5,25	6,34	15,90	25,20	3,01	24,04	7,99	49,92	259,8	0,21	7,60	80,91	2,92
	3	5,21	5,78	12,60	17,90	4,37	29,95	6,85	51,34	254,8	0,43	11,89	106,99	4,69
	4	5,07	4,01	13,80	24,60	3,26	24,92	7,65	50,51	261,3	0,20	14,19	98,22	4,85
	5	5,20	4,69	9,90	22,30	4,82	21,67	4,50	48,55	252,6	0,23	7,98	79,21	3,87
	6	5,13	6,29	14,60	22,90	4,19	20,76	4,96	49,54	261,7	0,37	9,71	86,78	4,64
	7	5,09	6,07	14,80	22,00	3,82	23,01	6,02	49,21	255,9	0,31	7,68	78,05	3,00
	8	5,19	5,62	13,40	25,90	3,70	19,18	5,18	49,39	264,7	0,15	5,65	68,21	3,00
	9	5,18	5,71	15,30	22,70	3,53	18,20	5,15	47,56	255,5	0,17	6,24	74,66	3,62
	Mal	1	5,37	7,44	10,20	15,90	2,93	23,17	7,90	47,71	247,9	0,84	15,46	107,35
Nig	1	5,41	6,36	10,00	14,50	2,84	34,41	12,11	56,39	280,4	0,14	7,23	92,25	3,48
	2	5,82	5,78	3,50	17,00	2,64	29,55	11,18	51,86	261,9	0,11	3,82	83,37	2,42
	3	5,76	6,27	3,90	14,40	1,80	29,27	16,25	50,73	256,9	0,22	6,05	93,83	1,76
	4	5,98	7,45	3,50	16,00	1,61	29,64	18,40	51,22	259,6	0,15	6,51	84,04	4,28
	5	6,05	6,63	3,70	17,90	2,52	26,50	10,50	52,21	270,2	0,14	3,92	65,83	3,56
	6	6,07	6,89	3,70	16,90	1,98	32,51	16,38	53,58	268,1	0,12	5,90	95,03	3,83
	7	5,65	6,47	8,00	19,30	1,96	30,74	15,68	51,71	259,9	0,17	6,16	80,18	3,45
	8	6,16	6,31	2,50	17,80	1,87	31,79	16,98	52,28	261,6	0,12	6,08	73,30	3,93
	9	6,16	7,02	2,60	15,30	1,78	30,67	17,20	52,04	262,4	0,20	7,67	93,58	3,74
	10	6,10	5,05	2,20	14,40	1,65	29,14	17,70	52,04	265,6	0,22	7,21	92,78	3,71
	11	5,91	6,05	4,20	18,30	2,06	30,37	14,77	53,19	269,7	0,11	5,83	71,04	3,80
	12	6,04	5,44	3,20	16,90	1,35	31,00	22,95	51,88	261,5	0,16	7,15	91,16	3,57
	13	5,82	6,22	6,70	18,70	2,70	30,30	11,24	54,92	279,5	0,12	6,83	85,07	3,71
	14	5,72	5,28	7,00	16,70	1,44	32,08	22,24	51,58	257,4	0,21	12,23	109,07	4,41
Nig	15	5,42	6,52	9,90	17,20	1,88	29,18	15,56	52,26	266,5	0,12	6,99	90,01	4,70
	16	5,23	6,52	10,90	16,80	0,96	33,45	34,97	49,82	244,6	0,19	9,08	89,29	4,77
	17	5,46	6,50	8,60	18,30	2,09	30,91	14,79	52,15	262,1	0,10	4,17	65,11	3,68
Pap	1	5,28	5,83	11,90	24,80	3,84	20,37	5,30	48,67	257,7	0,12	3,25	54,68	2,68
	2	4,72	5,63	20,80	26,20	4,00	21,40	5,35	47,47	247,9	0,24	6,86	93,97	3,45
	3	5,21	6,24	7,20	18,30	5,64	19,96	3,54	49,07	257,7	0,14	3,03	60,78	2,75
	4	5,29	6,04	9,80	22,90	4,05	19,35	4,78	44,52	233,3	0,14	3,65	71,01	2,99
	5	5,38	6,24	8,50	21,30	4,06	24,67	6,08	51,10	264,1	0,27	3,29	79,56	3,18
	6	4,82	4,58	22,00	26,00	4,21	21,50	5,10	48,91	256,3	0,10	2,40	72,07	2,79
	7	4,72	4,87	20,90	28,80	4,20	22,23	5,29	49,43	258,1	0,19	3,91	75,97	2,12
	8	4,83	5,87	19,50	27,40	4,59	23,05	5,02	50,93	265,2	0,16	3,03	71,06	2,42
Sal	1	4,82	5,48	14,10	27,40	1,35	20,70	15,35	47,57	254,6	0,20	3,23	69,37	1,77
	2	4,92	5,80	16,50	23,10	1,58	20,17	12,73	47,07	252,1	0,12	2,66	55,71	2,06
São	1	4,82	7,32	16,80	21,70	1,69	26,25	15,49	49,74	256,8	0,19	4,56	80,70	4,36
Sie	1	6,23	7,31	2,40	13,30	1,72	29,71	17,27	51,68	262,1	0,11	4,53	70,09	3,86
Tan	1	5,71	5,54	7,50	13,80	3,99	32,15	8,05	52,26	256,9	0,22	9,92	112,23	5,54
	2	5,62	6,66	10,00	12,60	4,40	32,85	7,46	53,07	259,9	0,17	10,35	107,14	6,24
	3	5,82	5,43	6,30	12,30	4,00	31,48	7,87	53,53	266,2	0,46	13,90	129,07	6,43
	4	5,58	5,66	8,60	12,50	4,05	33,77	8,34	54,54	267,9	0,18	10,34	112,86	5,23
Tog	1	5,77	6,54	4,90	16,80	1,75	29,72	16,99	51,75	262,5	0,14	7,66	88,93	3,04
	2	5,57	6,10	6,40	16,20	1,17	31,99	27,38	49,84	247,2	0,21	10,48	102,30	4,66
	3	5,65	6,85	7,00	16,80	1,54	32,50	21,12	50,44	249,3	0,21	8,00	96,81	4,30
	4	5,25	6,36	12,40	17,80	1,51	31,73	21,07	51,52	257,6	0,13	5,43	57,29	4,22
	5	5,20	6,44	13,40	17,60	2,33	30,78	13,19	53,40	269,7	0,18	6,79	87,29	3,24
Tri	1	5,36	6,49	8,20	18,60	6,31	26,04	4,12	52,74	267,6	0,13	4,90	94,53	2,80
Uga	1	5,30	5,97	14,90	19,20	3,39	32,88	9,70	54,32	269,5	0,22	5,08	89,43	2,92
	2	6,12	7,22	2,50	17,50	2,85	30,27	10,63	52,78	265,9	-	1,53	54,78	1,32
	3	5,46	5,62	8,50	18,30	2,99	30,49	10,18	52,28	262,1	0,15	4,62	84,28	3,00
	4	5,56	5,70	7,90	19,00	3,14	31,54	10,05	53,60	268,0	0,20	3,66	74,56	2,72
	5	5,62	4,82	6,70	18,30	2,52	28,55	11,35	50,76	257,2	0,23	4,42	66,17	3,58
	6	5,95	6,96	2,00	19,60	2,82	29,60	10,51	54,24	276,4	0,05	1,84	66,99	3,29
	7	5,72	5,59	7,40	15,50	3,60	32,78	9,10	54,21	268,6	0,13	4,79	80,75	4,01
	8	6,23	5,52	2,40	15,90	3,11	28,45	9,15	53,37	272,6	-	1,34	46,20	1,47
	9	6,31	5,64	2,70	15,70	3,28	28,49	8,70	53,67	274,1	-	0,96	44,63	1,54
Van	1	5,41	5,09	8,20	18,20	4,37	28,15	6,45	51,47	259,1	0,35	6,12	89,62	1,88
Ven	1	5,52	6,30	8,60	15,40	6,43	27,91	4,34	52,99	265,3	0,21	8,97	94,22	3,93
	2	5,80	6,57	3,30	15,90	7,09	26,05	3,68	50,66	253,2	0,33	12,64	117,04	6,00
	3	5,50	5,86	6,60	14,40	6,35	27,15	4,28	51,20	255,8	0,19	9,83	89,91	4,92
	4	5,80	5,36	5,40	15,20	7,96	28,67	3,60	52,08	255,4	0,21	9,98	125,66	5,70
	5	5,40	5,86	11,20	17,30	6,54	24,25	3,71	51,56	263,3	0,30	10,76	102,86	3,67

Tab. 25 Varianzanalyse zur Überprüfung des Effektes Herkunft auf die untersuchten Variablen der Kapitel 4.1.2-4.1.7.4

Analysiert wurden die Mittelwerte von 13 Herkunftsregionen mit vier oder mehr Proben (bei Herkünften mit $N > 4$ wurden per Zufall 4 Proben ausgewählt) $n = 4$, insgesamt 52 Proben. Einfaktorielle ANOVA, kategorialer Faktor: Herkunft. SQ = Summe der Quadrate, FG = Freiheitsgrade, MQ = Mittlere Quadratsumme, F = Signifikanzniveau nach F-Test, p-Wert = Irrtumswahrscheinlichkeit bei $\alpha = 0,05$

Abhängige Variable	SQ Effekt	SQ Fehler	MQ Effekt	MQ Fehler	F	p-Wert
pH-Wert	6,04	1,32	0,50	0,03	14,79*	<0,001
Essigsäuregehalt	754,10	349,14	62,84	8,95	7,02*	<0,001
Milchsäuregehalt	579,09	124,16	48,26	3,18	15,16*	<0,001
Gesamtphenolgehalt	9837,63	8983,11	819,80	236,40	3,47*	0,002
Epicatechingehalt	548,68	359,01	45,72	9,45	4,84*	<0,001
Catechingehalt	0,559	0,326	0,047	0,009	5,44*	<0,0001
Antioxidatives Potenzial	48,90	27,29	4,07	0,72	5,68*	<0,0001
Theobromingehalt	842,75	175,40	70,23	4,50	15,62*	<0,0001
Coffeingehalt	163,48	17,78	13,62	0,46	29,89*	<0,0001
Quotient T/C	1383,47	127,73	115,29	3,28	35,20*	<0,0001
FAA-Gesamtgehalt	725,20	197,55	60,43	5,07	11,93*	<0,0001
Alaningehalt	8,03	3,70	0,67	0,09	7,1*	<0,0001
Threoningehalt	0,983	0,435	0,082	0,011	7,34*	<0,001
Asparaginsäuregehalt	0,951	0,318	0,079	0,008	9,73*	<0,001
GABA-Wert	496,7	321,3	41,4	8,2	5,02*	<0,0001
Stickstoffgehalt	4,24	0,78	0,35	0,02	17,69*	<0,0001
Gesamtproteingehalt	90,61	21,53	7,55	0,55	13,68*	<0,001
Fettgehalt	143,2	49,4	11,9	1,3	9,4*	<0,0001
Palmitinsäureanteil	53,22	21,30	4,43	0,55	8,12*	<0,0001
Stearinsäureanteil	64,22	16,56	5,35	0,42	12,6*	<0,0001
Ölsäureanteil	49,74	17,79	4,14	0,46	9,1*	<0,0001
Linolsäureanteil	6,57	2,37	0,55	0,06	9,00*	<0,0001
Diglyceridanteil	2,45	3,53	0,20	0,09	2,25*	0,0277
POP-Triglyceridanteil	63,57	26,13	5,30	0,67	7,91*	<0,0001
POS-Triglyceridanteil	13,57	6,72	1,13	0,17	6,56*	<0,0001
SOS-Triglyceridanteil	105,53	33,08	8,79	0,85	10,37*	<0,0001
Samengewicht	1,22	0,32	0,10	0,01	12,32	0,0001*

*signifikant

Tab. 27 Korrelationsmatrix für ausgewählte Untersuchungsparameter des Kapitels 4.1 inklusive der freien Aminosäuren

Die Tabelle listet die Bestimmtheitsmaße (r^2) auf. r^2 -Werte größer 0,49 sind rot markiert, grau markierte Zellen zeigen r-Werte mit $p \leq 0,01$ an; n = 108 (außer Lysin n = 104).

	Asparaginsäure	Glutaminsäure	Asparagin	Serin	Glycin	Threonin	Arginin	Alanin	Tyrosin	Valin	Phenylalanin	Isoleucin	Leucin	Lysin	GABA-Wert	FAA	„hydrophobe“ FAA	„saure“ FAA	„andere“ FAA	„hydrophobe“/ „saure“ FAA	„hydrophobe“/ „andere“ FAA	„saure“/ „andere“ FAA
<i>schiefrige</i> [%]	0,15	0,17	0,09	0,13	0,08	0,12	0,14	0,12	0,16	0,16	0,18	0,14	0,18	0,10	0,25	0,16	0,17	0,16	0,12	0,09	0,03	0,08
<i>schimmelige</i> [%]	0,01	0,03	0,13	0,06	0,10	0,07	0,06	0,09	0,07	0,02	0,08	0,02	0,07	0,05	0,00	0,07	0,07	0,06	0,06	0,02	0,01	0,01
<i>hellbrechende</i> [%]	0,24	0,05	0,10	0,13	0,26	0,21	0,19	0,16	0,17	0,12	0,16	0,14	0,17	0,18	0,02	0,17	0,16	0,09	0,20	0,11	0,14	0,12
<i>violette</i> [%]	0,27	0,02	0,02	0,20	0,07	0,13	0,20	0,11	0,19	0,18	0,17	0,16	0,19	0,13	0,09	0,16	0,17	0,04	0,17	0,22	0,09	0,17
<i>fermentierte</i> [%]	0,38	0,10	0,06	0,29	0,12	0,22	0,30	0,19	0,31	0,30	0,29	0,26	0,32	0,20	0,24	0,27	0,29	0,13	0,26	0,29	0,11	0,23
Radikula [g]	0,04	0,01	0,04	0,00	0,02	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,02	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,03	0,01	0,05	0,04	0,05
Testa [g]	0,13	0,03	0,04	0,15	0,24	0,19	0,21	0,16	0,13	0,07	0,16	0,06	0,17	0,16	0,01	0,15	0,14	0,04	0,20	0,16	0,20	0,16
Kotyledonen [g]	0,12	0,02	0,05	0,04	0,00	0,02	0,02	0,03	0,03	0,09	0,03	0,11	0,03	0,02	0,08	0,04	0,04	0,05	0,02	0,01	0,00	0,00
Samengewicht [g]	0,12	0,02	0,04	0,04	0,00	0,01	0,01	0,03	0,03	0,08	0,02	0,10	0,02	0,02	0,08	0,03	0,03	0,05	0,02	0,00	0,00	0,00
Radikula [%]	0,01	0,00	0,00	0,06	0,02	0,04	0,03	0,02	0,05	0,03	0,04	0,03	0,03	0,03	0,00	0,03	0,04	0,00	0,04	0,09	0,01	0,05
Testa [%]	0,45	0,09	0,18	0,30	0,30	0,28	0,31	0,31	0,25	0,28	0,27	0,29	0,28	0,27	0,12	0,30	0,29	0,18	0,32	0,19	0,16	0,15
Kotyledonen [%]	0,45	0,08	0,17	0,31	0,30	0,29	0,31	0,31	0,26	0,28	0,27	0,29	0,29	0,27	0,12	0,30	0,29	0,18	0,32	0,20	0,16	0,15
pH	0,35	0,22	0,37	0,39	0,49	0,44	0,47	0,45	0,47	0,30	0,50	0,31	0,48	0,34	0,20	0,46	0,46	0,34	0,43	0,27	0,23	0,28
Stickstoff	0,20	0,02	0,04	0,10	0,23	0,15	0,12	0,15	0,14	0,09	0,13	0,11	0,12	0,15	0,05	0,13	0,13	0,04	0,15	0,14	0,04	0,07
Rohprotein	0,02	0,01	0,00	0,00	0,06	0,02	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,00	0,01	0,01	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01	0,04	0,00	0,00
Catechin	0,00	0,03	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,00	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,00	0,05	0,01	0,01	0,00	0,00	0,02	0,00	0,01
Epicatechin	0,34	0,20	0,04	0,27	0,07	0,18	0,26	0,18	0,27	0,33	0,26	0,29	0,31	0,19	0,45	0,26	0,28	0,16	0,22	0,24	0,07	0,17
Gesamt PP	0,23	0,15	0,03	0,17	0,05	0,13	0,17	0,13	0,15	0,23	0,16	0,19	0,19	0,14	0,23	0,17	0,18	0,13	0,15	0,13	0,08	0,12
Antioxidatives P.	0,32	0,18	0,08	0,25	0,05	0,13	0,21	0,16	0,22	0,27	0,22	0,23	0,25	0,13	0,36	0,22	0,23	0,18	0,18	0,14	0,05	0,10
Fett [%]	0,07	0,10	0,00	0,18	0,04	0,13	0,14	0,10	0,17	0,18	0,14	0,16	0,16	0,17	0,15	0,14	0,16	0,03	0,15	0,24	0,07	0,14
Diglyceride [%]	0,01	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01	0,02	0,02
C 16 [%]	0,01	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,01	0,00
C 18 [%]	0,07	0,05	0,01	0,15	0,03	0,06	0,08	0,07	0,10	0,09	0,10	0,07	0,09	0,04	0,10	0,08	0,09	0,03	0,08	0,09	0,00	0,02
C 18:1 [%]	0,00	0,02	0,02	0,02	0,01	0,01	0,03	0,02	0,03	0,02	0,03	0,01	0,03	0,01	0,00	0,03	0,03	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01
POP-Triglycerid	0,04	0,05	0,00	0,08	0,02	0,05	0,02	0,05	0,06	0,08	0,05	0,06	0,05	0,03	0,11	0,05	0,06	0,02	0,04	0,07	0,00	0,02
POS-Triglycerid	0,02	0,01	0,01	0,02	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,07	0,00	0,01	0,00	0,01	0,06	0,00	0,00
SOS-Triglycerid	0,04	0,02	0,00	0,07	0,01	0,04	0,02	0,04	0,04	0,06	0,04	0,05	0,04	0,03	0,12	0,04	0,05	0,01	0,03	0,08	0,00	0,02
M/E	0,04	0,03	0,11	0,04	0,19	0,11	0,09	0,12	0,08	0,04	0,10	0,05	0,09	0,12	0,00	0,09	0,09	0,06	0,10	0,05	0,05	0,04
Essigsäure	0,41	0,19	0,28	0,37	0,63	0,47	0,47	0,54	0,41	0,33	0,44	0,36	0,46	0,49	0,12	0,47	0,46	0,29	0,49	0,30	0,22	0,22
Milchsäure	0,62	0,48	0,40	0,69	0,53	0,62	0,66	0,66	0,65	0,65	0,71	0,60	0,72	0,52	0,35	0,71	0,71	0,55	0,64	0,38	0,30	0,35
Σ M+E	0,60	0,36	0,40	0,60	0,70	0,64	0,66	0,72	0,61	0,54	0,66	0,55	0,68	0,61	0,25	0,68	0,68	0,47	0,67	0,40	0,30	0,33
Coffein	0,00	0,11	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,02	0,03	0,01	0,03	0,01	0,00	0,03	0,01	0,01	0,05	0,00	0,00	0,02	0,01
Theobromin	0,47	0,10	0,18	0,32	0,42	0,36	0,39	0,40	0,30	0,33	0,35	0,32	0,37	0,39	0,10	0,38	0,37	0,20	0,41	0,28	0,22	0,22
T/C	0,06	0,03	0,01	0,02	0,06	0,03	0,04	0,03	0,00	0,01	0,01	0,01	0,03	0,05	0,00	0,02	0,02	0,00	0,04	0,06	0,04	0,04

Tab. 28 Normalverteilungstest nach Lilliefors
Kennwerte des Normalverteilungstests nach Lilliefors

Probe	n	Max D	Lilliefors p	Probe	n	Max D	Lilliefors p
Bra 1	100	0,055842	p > 0,20	Mad 4	100	0,037984	p > 0,20
Bra 2	100	0,051034	p > 0,20	Mad 5	100	0,075326	p < ,20
Bra 3	100	0,038172	p > 0,20	Mad 6	100	0,032357	p > 0,20
Dom 1	100	0,075726	p < ,20	Mad 7	100	0,056634	p > 0,20
Ecu 1	100	0,047996	p > 0,20	Mad 8	100	0,070280	p > 0,20
Ecu 2	100	0,071331	p > 0,20	Mad 9	100	0,060312	p > 0,20
Ecu 3	100	0,081941	p < ,10	Mal 1	100	0,052394	p > 0,20
Ecu 4	100	0,047467	p > 0,20	Nig 1	100	0,070401	p > 0,20
Ecu 5	100	0,063726	p > 0,20	Nig 10	100	0,065843	p > 0,20
Ecu 6	100	0,058682	p > 0,20	Nig 11	100	0,053670	p > 0,20
Ecu 7	100	0,053540	p > 0,20	Nig 12	100	0,159786	p < ,01
Ecu 8	100	0,046677	p > 0,20	Nig 13	100	0,097186	p < ,05
Ecu 9	100	0,070987	p > 0,20	Nig 14	100	0,101936	p < ,05
Ecu 10	100	0,082866	p < ,10	Nig 15	100	0,044850	p > 0,20
Ecu 11	100	0,064136	p > 0,20	Nig 16	100	0,061200	p > 0,20
Ecu 12	100	0,048185	p > 0,20	Nig 17	100	0,061804	p > 0,20
Ecu 13	100	0,084075	p < ,10	Nig 2	100	0,106325	p < ,01
Ecu 14	100	0,088217	p < ,10	Nig 3	100	0,057985	p > 0,20
Elf 1	100	0,063053	p > 0,20	Nig 4	100	0,074119	p < ,20
Elf 2	100	0,045615	p > 0,20	Nig 5	100	0,063626	p > 0,20
Elf 3	100	0,086853	p < ,10	Nig 6	100	0,082193	p < ,10
Elf 4	100	0,086088	p < ,10	Nig 7	100	0,126749	p < ,01
Elf 5	100	0,056536	p > 0,20	Nig 8	100	0,109451	p < ,01
Elf 6	100	0,066794	p > 0,20	Nig 9	100	0,084811	p < ,10
Elf 7	100	0,058969	p > 0,20	Pap 1	100	0,052117	p > 0,20
Elf 8	100	0,048670	p > 0,20	Pap 2	100	0,079933	p < ,15
Elf 9	100	0,055062	p > 0,20	Pap 3	100	0,085639	p < ,10
Elf 10	100	0,070035	p > 0,20	Pap 4	100	0,090574	p < ,05
Elf 11	100	0,072175	p > 0,20	Pap 5	100	0,063578	p > 0,20
Elf 12	100	0,075903	p < ,20	Pap 6	100	0,059302	p > 0,20
Elf 13	100	0,075070	p < ,20	Pap 7	100	0,089262	p < ,05
Elf 14	100	0,075786	p < ,20	Pap 8	100	0,089880	p < ,05
Elf 15	100	0,054890	p > 0,20	Sao 1	100	0,093788	p < ,05
Elf 16	100	0,053205	p > 0,20	Sie 1	100	0,094191	p < ,05
Elf 17	100	0,086232	p < ,10	Sal 1	100	0,073713	p < ,20
Gha 1	100	0,059072	p > 0,20	Sal 2	100	0,056942	p > 0,20
Gha 2	100	0,058449	p > 0,20	Tan 1	100	0,050563	p > 0,20
Gha 3	100	0,052170	p > 0,20	Tan 2	100	0,074483	p < ,20
Gha 4	100	0,066730	p > 0,20	Tan 3	100	0,053971	p > 0,20
Gha 5	100	0,075627	p < ,20	Tan 4	100	0,049698	p > 0,20
Gha 6	100	0,066835	p > 0,20	Tog 1	100	0,046011	p > 0,20
Gha 7	100	0,044512	p > 0,20	Tog 2	100	0,082908	p < ,10
Hai 1	100	0,071512	p > 0,20	Tog 3	100	0,094961	p < ,05
Hai 2	100	0,047764	p > 0,20	Tog 4	100	0,051790	p > 0,20
Hai 3	100	0,085977	p < ,10	Tog 5	100	0,059007	p > 0,20
Hai 4	100	0,052715	p > 0,20	Trin 1	100	0,050332	p > 0,20
Ind 1	100	0,078197	p < ,15	Uga 1	100	0,049015	p > 0,20
Ind 2	100	0,038601	p > 0,20	Uga 2	100	0,101591	p < ,05
Ind 3	100	0,049755	p > 0,20	Uga 3	100	0,074980	p < ,20
Ind 4	100	0,058620	p > 0,20	Uga 4	100	0,035848	p > 0,20
Ind 5	100	0,090884	p < ,05	Uga 5	100	0,087704	p < ,10
Ind 6	100	0,108002	p < ,01	Uga 6	100	0,066992	p > 0,20
Ind 7	100	0,069390	p > 0,20	Uga 7	100	0,078991	p < ,15
Ind 8	100	0,097710	p < ,05	Uga 8	100	0,047453	p > 0,20
Ind 9	100	0,071030	p > 0,20	Uga 9	100	0,057972	p > 0,20
Ind 10	100	0,079367	p < ,15	Van 1	100	0,079006	p < ,15
Kam 1	100	0,085895	p < ,10	Ven 1	100	0,076387	p < ,20
Lib 1	100	0,093024	p < ,05	Ven 2	100	0,071457	p > 0,20
Mad 1	100	0,064237	p > 0,20	Ven 3	100	0,076579	p < ,20
Mad 2	100	0,090981	p < ,05	Ven 4	100	0,061671	p > 0,20
Mad 3	100	0,061274	p > 0,20	Ven 5	100	0,041504	p > 0,20