

Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit
Band: 44 (1953)
Heft: 1

Artikel: Quantitative Papierchromatographie mit dem Spektrallinien-Photometer. 4. Mitteilung, Anwendung der Papierchromatographie auf lebensmittelchemische Probleme
Autor: Sulser, H. / Högl, O.
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-982845>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 18.02.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Quantitative Papierchromatographie mit dem Spektrallinien-Photometer

Anwendung der Papierchromatographie auf lebensmittelchemische Probleme

4. Mitteilung

Von *H. Sulser* und *O. Högl*

(Laboratorium des Eidg. Gesundheitsamtes, Bern)

I. Einleitung

In frühern Arbeiten ¹⁾²⁾³⁾ wurde gezeigt, dass die Papierchromatographie als qualitative Methode mit gutem Erfolg auch auf dem Gebiet der Lebensmittelchemie verwendet werden kann. Es betraf dies die Unterscheidung von Obstwein und Wein, sowie die Differenzierung verschiedener Essigarten. Dies war möglich durch den qualitativen Nachweis von Sorbit, Weinsäure, Glukose, Fruktose, Glycerin, Oxymethylfurfurol und andern Komponenten, die sich in eindeutiger Weise papierchromatographisch voneinander trennen liessen.

Es zeigte sich jedoch bereits, dass die Grösse und Stärke etwa der Sorbitflecken ²⁾ ungefähr parallel mit der analytisch-chemisch festgestellten Menge ging. Die relative Einfachheit und Sauberkeit der papierchromatographischen Technik ermutigte uns in der Folge, diese Methode in quantitativer bzw. halbquantitativer Weise zu verwerten, wobei wir allerdings die Art der Messtechnik in neuartiger Weise entwickeln mussten. Wir wollten prüfen, ob sich auf diese Weise nicht ein Weg finden liesse zur Abtrennung und Bestimmung wichtiger Komponenten von Lebensmitteln und Naturstoffen, die sonst in dieser Hinsicht Schwierigkeiten boten.

Von Interesse erschien es beispielsweise, die Bestimmung von Glycerin in Süsswein zu versuchen, da bisher eine quantitative Erfassung dieses mehrwertigen Alkohols neben der grossen Menge des Zuckers nicht in einwandfreier Weise gelungen war. Auch zur Bestimmung von Oxymethylfurfurol, diesem Abbauprodukt von Fruktose, war uns eine einfache und zuverlässige Methode nicht bekannt ³⁵⁾.

Bei Naturstoffen und Lebensmitteln handelt es sich ja meist um komplizierte Gemische, so dass die Schwierigkeiten der Bestimmung eines Bestandteils hauptsächlich von der unvollständigen Abtrennung von Begleitstoffen herrühren. Die Papierchromatographie ermöglicht es in vielen Fällen, die gesuchte Substanz zu isolieren und auf dem Papier zu lokalisieren, wodurch die Voraussetzung zu einer einwandfreien quantitativen Erfassung gegeben ist.

Die Art des Verfahrens bringt es allerdings mit sich, dass es nur auf Verbindungen, die genügend schwerflüchtig sind, angewendet werden kann.

Zahlreiche Arbeiten wurden von verschiedenen Forschern unternommen mit dem Ziel, die Papierchromatogramme quantitativ auszuwerten, wodurch das ganze Gebiet eine fruchtbare Ausgestaltung erfuhr. Wir erwähnen folgende prinzipiell voneinander abweichende Möglichkeiten zur quantitativen Erfassung von papierchromatographisch isolierten Substanzen.

- a) Nach dem Entwickeln werden die Substanzen auf irgendeine Weise sichtbar gemacht und die Grösse bzw. Stärke der Flecken in ihrer ursprünglichen Lage auf dem Papier («in situ») auf optischem Weg mit Proben von bekanntem Gehalt verglichen (*direkte Methode*).
- b) Die Bestimmung erfolgt nach der Chromatographie ebenfalls auf dem Papier, indem man eine Reagenslösung in diesem aufsteigen lässt. Trifft die Lösung auf reagierende Substanz, so bildet sich eine Lücke in der aufsteigenden Reagensfront, deren Grösse der Substanzmenge proportional ist (*Retentionsanalyse*) ^{4) 5)}.
- c) Das Papierchromatogramm wird zerschnitten, worauf die Stoffe aus dem Papier herausgelöst und «in vitro» mit gewöhnlichen chemischen Mikromethoden, polarographisch, spektrophotometrisch oder auf biologischem Weg bestimmt werden (*Elutionsmethode*) ^{6) 7) 8) 9) 10) 1)}.

Die Auswertung erfolgt immer durch Vergleich mit Testproben, die Seite an Seite mit der unbekannten Probe entwickelt werden.

Während anfänglich mehr die Elutionsmethoden (c) im Vordergrund standen, da hier die üblichen Verfahren der Mikrochemie ohne weiteres übernommen werden konnten, haben in der letzten Zeit die direkten Messungen (a) eine starke Entwicklung erfahren. Sie setzen zwar z.T. eine spezielle Apparatur voraus (Photometer, Densitometer), sind dann aber in der Ausführung relativ einfach und für Serienanalysen sehr geeignet, wobei eine eventuell stärkere Streuung der Einzelwerte vielfach in Kauf genommen werden kann. Durch Ausführung möglichst vieler Einzelbestimmungen, die die Erreichung eines Mittelwertes gestatten, gelingt eine gute Annäherung an den «wahren» Wert.

Bei der retentionsanalytischen Methode hat man mit einem zusätzlichen Unsicherheitsfaktor zu rechnen, der in der wechselnden Beschaffenheit von verschiedenen Lieferungen der gleichen Papiersorte liegt (Begleitstoffe von der Fabrikation). So kann es vorkommen, dass trotz sorgfältigem Auswaschen der Papiere, etwa mit verdünnter Säure, gewisse Retentiogramme nicht mehr in gleich guter Weise bzw. überhaupt nicht mehr reproduziert werden können, auch bei Verwendung von reinen Testproben. Die andern Methoden (a und c) sind weniger empfindlich gegenüber solchen geringen Qualitätsunterschieden des Papiers. Falls die Abtrennung von Begleitstoffen, die eventuell mit dem Farbreagens gar nicht erkennbar sind, nicht vollständig war, so besteht ferner die Möglichkeit, dass diese Stoffe einen zusätzlichen Retentionseffekt in der einen oder andern Weise bewirken, wodurch zu hohe Werte erhalten werden.

Wir gehen in der Folge näher auf die oben summarisch als «direkte Methoden» (a) bezeichneten ein. Man kann sie folgendermassen unterteilen:

1. Visueller Vergleich der Flecken mit solchen von bekannten Testproben, die Seite an Seite mit ihnen entwickelt wurden ⁴³⁾⁴⁴⁾⁴⁵⁾⁴⁶⁾⁵⁰⁾ (Näherungsmethode).
2. α) Die Chromatogramme werden schrittweise im durchfallenden Licht direkt photometrisch ausgemessen und die Extinktionen als Funktion der Weglänge auf mm-Papier aufgetragen. Die Substanzmenge berechnet sich aus der Fläche zwischen der Extinktionskurve und der Linie, welche die Extinktion des Papiers darstellt ¹²⁾¹⁶⁾⁵⁰⁾⁵¹⁾.
 β) Die Chromatogramme werden nach dem Sichtbarmachen photographiert und die Negative bzw. Diapositive in einem Photometer prinzipiell gleich wie unter α ausgemessen ¹¹⁾⁴⁷⁾ (2. α und β = *Photometrie*).
3. Nach dem Sichtbarmachen werden die maximalen Farbdichten der Flecken mit einem photoelektrischen Densitometer direkt auf dem Papier gemessen (*Densitometrie*) ¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾.
4. Die Grösse bzw. Länge der Flecken in Richtung der Bewegung des Lösungsmittels wird planimetrisch oder durch Auszählen auf mm-Papier bestimmt bzw. das entsprechende Papierstück gewogen (*Planimetrie*) ¹¹⁾¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾.
5. Unter diesen «direkten Methoden» gibt es weitere Spezialfälle, wo die Sichtbarmachung der getrennten Substanzen nicht mit chemischen Farbreagenzien auf dem Papier vorgenommen wird, sondern über den Weg eines Photoabdruckes bzw. einer Photokopie. Wir führen die folgenden Beispiele an:
 α) Werden radioaktive Elemente in die Substanz eingebaut, so kann die Strahlung in geeigneter Weise bestimmt und damit die Menge des Stoffes ermittelt werden. Man legt das getrocknete Chromatogramm auf Photopapier oder zählt den Papierstreifen mit einem Geiger-Zähler durch (*Autoradiographie*) ¹⁸⁾. Der Photoabdruck kann planimetrisch oder photometrisch nach den oben unter a) angeführten Verfahren ausgewertet werden.
 β) Gewisse Substanzen, auch nicht fluoreszierende, absorbieren im UV bei bestimmten Wellenlängen (Purine z.B. bei 2600 Å). Man sieht daher bei Durchstrahlung des Papiers dunkle Flecke bzw. im Photoabdruck helle Flecke (*Photoprintverfahren*) ⁴²⁾. Der Photoabdruck lässt sich planimetrieren bzw. photometrieren.
 γ) Die Papierchromatogramme von Vitaminen können mikrobiologisch sichtbar gemacht werden. Man legt den Papierstreifen auf eine entsprechend grosse Agarplatte mit einer Bakterienart, die das fragliche Vitamin zum Wachstum benötigt, und bebrütet die Platte. An den Stellen, an denen sich Wuchsstoff befand, findet Bakterienwachstum statt. Nach Abheben des Papiers ist der Agar an den entsprechenden Stellen getrübt. Man kann von der Agarplatte eine Photokopie anfertigen, wobei an den Stellen der Vitamine dann das Photopapier weniger geschwärzt wird. Die Auswertung kann planimetrisch oder photometrisch erfolgen ⁵⁵⁾.

In entsprechender Weise lassen sich auch Antibiotika handhaben ⁵⁶⁾⁵⁷⁾.

Wir werden später auf die Anwendung der Methoden gemäss a/3 und a/4 zurückkommen. Als Schnellmethoden dürften sie in zahlreichen Fällen recht gut brauchbar sein.

Da uns ein Spektrallinien-Photometer nach *Hilger*, ein bezüglich Genauigkeit und Empfindlichkeit hervorragendes Instrument, zur Verfügung stand, war es uns möglich, die quantitative Papierchromatographie nach Methode a/2 β zur Entwicklung zu bringen.

Im Folgenden berichten wir über die erhaltenen Ergebnisse. Diese Art der papierchromatographischen Auswertung ist unseres Wissens in der Literatur noch nicht näher beschrieben worden. Die ausgeführten Versuche dürften daher als Beitrag zur Methodik der quantitativen Papierchromatographie von Interesse sein, um so mehr, als die Anwendbarkeit eine sehr allgemeine zu werden verspricht.

II. Die quantitative Auswertung mit dem Spektrallinien-Photometer

A. Prinzip der Methode

Um einen papierchromatographisch erhaltenen Fleck direkt quantitativ auszuwerten, kann, wie oben erwähnt (S.), einerseits seine Flächengrösse, andererseits die optische Dichte herangezogen werden.

Fisher, Parsons und *Morrison* ¹¹⁾ haben experimentell gezeigt, dass unter bestimmten Verhältnissen eine lineare Beziehung besteht zwischen der Fläche des Fleckens auf dem Papier und dem Logarithmus der Konzentration der eingesetzten Substanzmenge. *Brimley* ¹⁸⁾ hat dafür eine theoretische Ableitung gegeben. Nach *Block* ¹⁴⁾ soll die Methode exakte Resultate ergeben, während *Cramer* ⁴¹⁾ ihr nur einen orientierenden Wert zuschreibt. Die praktische Ausmessung der Fleckengrösse stösst in vielen Fällen auf Schwierigkeiten, wenn die Fleckenränder unscharf und verschwommen sind, besonders bei geringen Mengen, oder wenn die Substanzen nicht scharf voneinander getrennt werden konnten ¹³⁾.

Wenn dies der Fall ist, dann kann man nach *Block* ¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾ zur quantitativen Auswertung die Erscheinung heranziehen, dass die maximale Farbdichte eines Fleckens proportional zur Konzentration des Materials im ganzen Fleck ist. Wenn die maximale Farbdichte in Beziehung zur Konzentration gesetzt wird, so sollen sich in manchen Fällen lineare Beziehungen ergeben ¹⁴⁾. Diese Methode setzt ein spezielles Instrument, das Densitometer, voraus, ist dann aber einfach und rasch und für viele Fälle, besonders für Serienuntersuchungen, sicher gut geeignet. Es wird dabei auf photoelektrischem Weg die Stelle der grössten Farbdichte direkt auf dem Papier bestimmt. Eine ziemlich grosse Rolle spielt bei dieser Methode die Form und Ausbildung der Flecken. Bei relativ kleiner und kompakter Form (z.B. beim Glycerin) entsprechen die Ausschläge am Galvanometer gut den vorhandenen Mengen. Handelt es sich dagegen um diffus ausgebreitete Flecken,

dann sind die Differenzen zwischen den Ausschlägen am Messinstrument trotz regelmässig abgestuften Konzentrationen ungleichmässig und scheinen stark von Zufälligkeiten beeinflusst zu werden, wie Vorversuche mit dem Densitometer ergaben. Wichtig ist, dass man möglichst viele Parallelversuche ausführt, um die Fehler auszugleichen.

Das Verhältnis zwischen Substanzmenge und Fleckengrösse allein bzw. Farbintensität allein kann also nur unter bestimmten Voraussetzungen zu linearen Beziehungen führen.

Breitet sich ferner der eine Fleck aus irgendeinem Grund im Verlauf der Entwicklung auf dem Papier etwas stärker aus als der andere, so wird notwendigerweise die Flächenausdehnung auf Kosten der Farbintensität zunehmen und umgekehrt. Diese beiden Grössen für sich allein genommen würden also ein falsches Bild ergeben. Erst die Erfassung beider Komponenten kann in einem solchen Fall der vorhandenen Menge proportional sein, das Produkt dieser beiden Grössen bleibt konstant für eine bestimmte Substanzmenge.

Von den 3 früher erwähnten «direkten Methoden» (Photometrie, Densitometrie, Planimetrie) erfüllt einzig die Photometrie diese Bedingung.

Auf diese Weise erlangt man eine gewisse Unabhängigkeit von der speziellen Form (Deformation) der Flecken, welche diese unter dem Einfluss von Papier, Begleitstoffen und Lösungsmitteln annehmen können. Daher dürfte dieser Methode eine allgemeinere Anwendbarkeit zukommen als den beiden andern. Ob unter den praktischen Bedingungen der Entwicklung des Chromatogramms, der Sichtbarmachung auf dem Papier, der Art der Auswertung mit dem Photometer usw. eine gute Proportionalität mit den Substanzmengen in den Flecken zu erhalten ist, konnte im voraus nicht beurteilt werden. Erfahrungen andernorts liessen dies bezweifeln. Die bisher von uns durchgeführten Versuche haben aber gezeigt, dass bei geeignetem Vorgehen brauchbare Werte erhalten werden können.

Wie vorzugehen ist, um möglichst gut reproduzierbare und richtige Resultate zu erhalten, soll in den folgenden Abschnitten dargelegt werden.

B. Die Messung mit dem Photometer

1. Die Art und Weise der Messung

Die oben erwähnte photometrische Auswertung ist an sich naheliegend. Wir fanden aber einzig von *Fisher* und Mitarbeitern ¹¹⁾ *) einen kurzen Hinweis auf

*) Nach Abschluss dieser Arbeiten erhielten wir Kenntnis der Publikation von *Gustafsson, Sundman* und *Lindh* ⁴⁷⁾. Diese Autoren führen quantitative papierchromatographische Bestimmungen in Mischungen von Zuckerarten aus (Glukose, Galaktose, Mannose, Arabinose, Xylose) durch Photographieren des entwickelten Chromatogramms auf Ciné-Film bei 17,5 facher Verkleinerung und Ausmessen der Flecken im Negativ mittels eines Schnell-Spektrallinien-Photometers von Zeiss. Sie wenden die Methode auf die Analyse von Holzhydrolysaten usw. an. Details betreffend Arbeitstechnik fehlen jedoch auch in dieser Arbeit.

diese Möglichkeit. Es fehlen dort aber alle nähern Angaben, und die Methode scheint in der von den Autoren gehandhabten Weise nicht recht befriedigt zu haben. Tatsächlich bereitet die einwandfreie quantitative Auswertung gewisse Schwierigkeiten. Erst bei Beachtung einiger Regeln gelingt die quantitative Erfassung.

Ohne Kenntnis der oben erwähnten Arbeiten und ohne in der Literatur dienliche Hinweise finden zu können, begannen wir vor mehr als Jahresfrist unsere Untersuchungen.

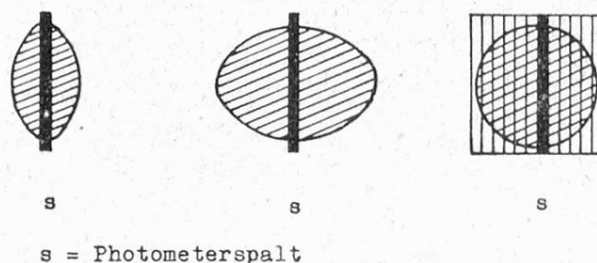
Prinzipiell wird, wie oben unter «Photometrie» skizziert, so vorgegangen, dass vom fertigen Chromatogramm im geeigneten Zeitpunkt, d.h. wenn die Flecken am deutlichsten hervortreten, eine photographische Aufnahme angefertigt und von dieser ein Diapositiv erstellt bzw. das Negativ selber ausgewertet wird. Um in den Bereich des uns zur Verfügung stehenden Spektrallinien-Photometers zu gelangen, musste im Kleinbildformat 24×36 mm (Verkleinerung ca. 13fach) gearbeitet werden.

Zur richtigen Auswertung des Diapositivs bzw. Negativs ist es natürlich notwendig, dass möglichst die ganze Fläche eines Fleckens vom Photometer erfasst wird. Nehmen wir als extremen Fall an, dass nur eine einzige Messung ausgeführt würde, so könnte trotz sehr stark voneinander abweichender Fleckengrösse praktisch derselbe Wert erhalten werden (Fig. 1 und 2).

Fig.1

Fig.2

Fig.3



Man muss also eine Messung «Spalt an Spalt» ausführen. Beim Hilger-Spektrallinien-Photometer erreicht man dies bei Einstellung auf Spaltbreite 85 (ca. 0,12 mm) und bei einer sukzessiven Verschiebung um je $\frac{1}{4}$ Umdrehung der Mikrometerkurbel, was 0,125 mm entspricht. Auf diese Weise wird der Spalt fast um eine ganze Breite seitlich verschoben. Beträgt der Durchmesser eines Fleckens im Diapositiv bzw. Negativ 1—1,5 mm, welche Grösse selten überschritten wird (vgl. Teil C), dann sind zur vollständigen Ausmessung eines Fleckens etwa 10 Verschiebungen notwendig (Fig. 3).

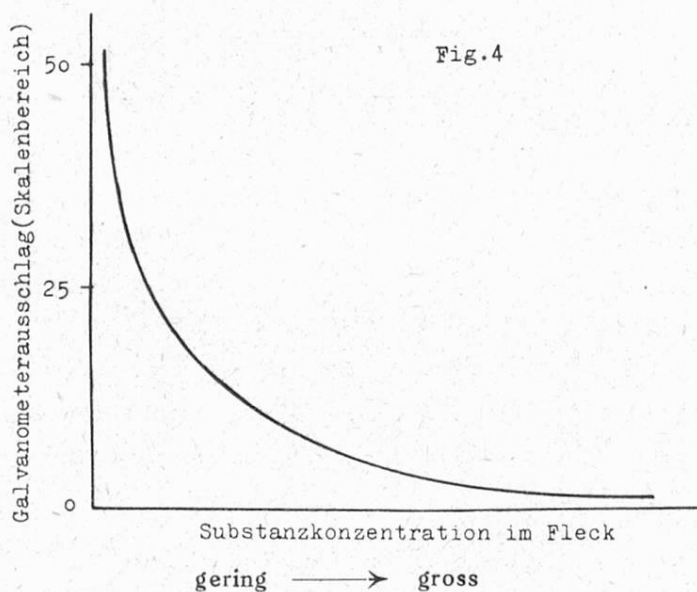
Nach jeder Verschiebung wird der Ausschlag am Photometer abgelesen und auf mm-Papier aufgetragen, wobei man als Funktion der Weglänge eine Glockenkurve erhält (Fig. 5 und 7).

Die Reproduzierbarkeit der Messung am gleichen Diapositiv bzw. Negativ ist gut.

In der Regel ist der Untergrund links und rechts vom Fleck etwa gleich hell, so dass die Basis der Glockenkurve ungefähr waagrecht verläuft. Ihr Scheitel zeigt den Ort grösster optischer Dichte an, d.h. der im Fleck vorhandenen grössten Substanzkonzentration. Der richtigen Erfassung dieses Bereiches kommt dementsprechend grösste Bedeutung zu.

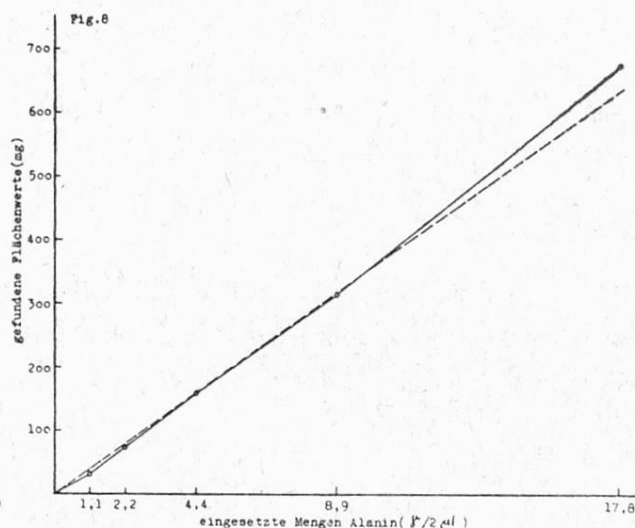
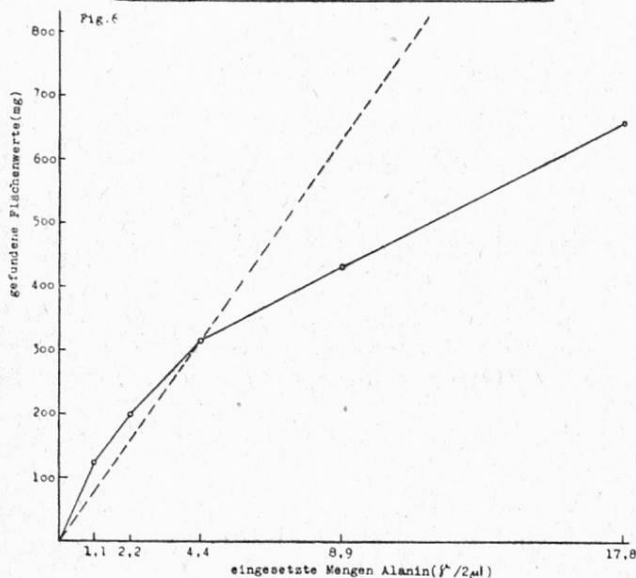
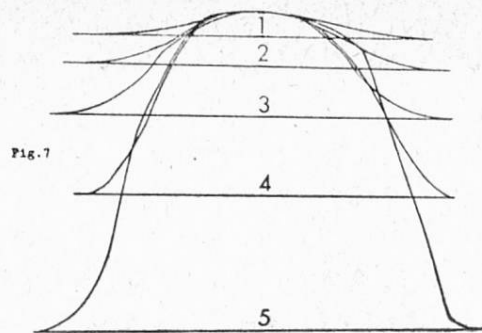
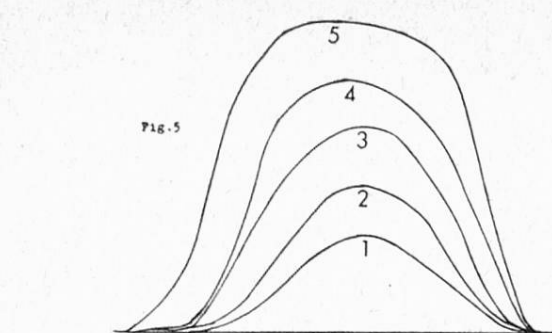
Der Flächeninhalt der Glockenkurve zwischen Basis und Scheitel ist nun ein Mass für die vorhandene Substanzmenge. Er stellt die Integration von Farbintensität und Flächenausdehnung dar. Um eine gute Proportionalität zwischen diesem «Flächenwert» und der entsprechenden Substanzmenge zu erhalten, muss jedoch bei der Auswertung im Photometer noch ein weiterer wichtiger Umstand berücksichtigt werden. Es ist dies der Skalenbereich des Photometers, in welchem die Messung erfolgt.

Das Photometer reagiert nicht linear auf die verschiedenen Schwärzungsgrade der Flecken, die den Substanzkonzentrationen entsprechen. Die Funktion ist eine logarithmische (Fig. 4).



Einem bestimmten Skalenbereich im Gebiet geringer Substanzkonzentration im Fleck entsprechen nicht gleiche Mengen wie einem ebenso grossen im Gebiet stärkerer Schwärzung. Entsprechend Fig. 4 sind die Ausschläge am Galvanometer und damit die Flächeninhalte der Glockenkurven bei geringen Mengen relativ viel grösser als bei höheren Konzentrationen. Daher werden die schwächeren Flecken, ferner die schwachen Randpartien derselben, sowie geringe Farbunterschiede des Hintergrundes überproportioniert gegenüber den dunkleren Partien.

Misst man also die Flecken einer Verdünnungsreihe, nach Art der Abb. 1 und 2 (S. 91), ohne besondere Massnahmen durch und vergleicht die so auf ungefähr gleicher Basislinie erhaltenen Glockenkurven (gleiche Helligkeit des Hinter-



grundes) mit den entsprechenden Substanzmengen, so erhält man keine richtige Proportionalität der Flächenwerte. Wie Fig. 5 und Tab. 1 zeigen, bleiben bei steigenden Mengen die gefundenen Flächenwerte immer mehr hinter den der eingesetzten Substanzmenge entsprechenden zurück (Fig. 6).

Ganz anders liegen die Verhältnisse, wenn man die Glockenkurven durch Variation der Empfindlichkeit des Photometers bei der Messung auf gleiche Scheitelhöhe einstellt, d.h. die Stellen stärkster Schwärzung bei allen Glocken-

Alanin-Verdünnungsreihe

Tabelle 1

| Fleck Nr. | Verhältnis der eingesetzten Substanzmenge | Verhältnis der gefundenen Flächenwerte | Abweichung in % |
|-----------|---|--|-----------------|
| 1 | 1,00 | 1,00 | 0 |
| 2 | 2,00 | 1,64 | — 18 |
| 3 | 4,00 | 2,57 | — 36 |
| 4 | 8,00 | 3,53 | — 56 |
| 5 | 16,00 | 5,40 | — 66 |

Tabelle 2

| Verhältnis der eingesetzten Substanzmenge | Verhältnis der gefundenen Flächenwerte | Abweichung in % |
|---|--|-----------------|
| 1,00 | 0,74 | — 26 |
| 2,00 | 1,74 | — 13 |
| 4,00 | 3,75 | — 6 |
| 8,00 | 7,42 | — 7 |
| 16,00 | 16,00 | 0 |

Ergänzungen zu Tabelle 1 und 2

| Fleck-Nr. | Flächenwert gefunden mg | Menge Manin eingesetzt $\gamma/2 \mu l$ | Menge Alanin dem Flächenwert entsprechend | | Flächenwert gefunden mg | Menge Alanin eingesetzt $\gamma/2 \mu l$ | Menge Alanin dem Flächenwert entsprechend | |
|-----------|----------------------------|--|---|--------------------------|----------------------------|---|---|--------------------------|
| | | | $\gamma/2 \mu l$ | % der eingesetzten Menge | | | $\gamma/2 \mu l$ | % der eingesetzten Menge |
| 1 | 121,8 | 1,11 | 1,7 | 153 | 31,3 | 1,11 | 0,87 | 78 |
| 2 | 199,4 | 2,22 | 2,8 | 126 | 73,4 | 2,22 | 2,1 | 95 |
| 3 | 312,3 | 4,44 | 4,44 | 100,0 | 158,6 | 4,44 | 4,44 | 100,0 |
| 4 | 429,7 | 8,9 | 6,1 | 68 | 313,5 | 8,9 | 8,8 | 99 |
| 5 | 657,6 | 17,8 | 9,3 | 52 | 675,4 | 17,8 | 18,9 | 106 |

kurven als festen Bezugswert wählt, wie dies in Fig. 7 und 8 dargestellt ist. Man sieht jetzt, dass die Proportionalität zwischen Substanzmenge und Fläche der Glockenkurve nahezu erhalten bleibt (Tab. 2).

Es wurde auf diese Weise das gleiche Diapositiv (Alanin-Verdünnungsreihe) durchgemessen wie in Fig. 5 und 6 und Tab. 1.

Praktisch gestaltet sich damit die Messung am Photometer wie folgt:

Die Kleinbildphotoplatte, in der Regel ein Diapositiv, wird im Spektrallinien-Photometer fixiert und dann Fleck für Fleck durchgemessen, angefangen beim stärksten. Hier wird der Untergrund zunächst auf den grösstmöglichen Skalenwert eingestellt, um die Skala maximal ausnützen zu können. Es ist darauf zu achten, dass der Untergrund sowohl links als rechts vom Fleck innerhalb des Messbereiches fällt. Immer nach $1/4$ Umdrehung der Mikrometerkurbel wird der Ausschlag am Galvanometer abgelesen. Man ermittelt dann den niedrigsten Messwert (Scheitelwert), welcher nun *als Bezugswert zur Ausmessung aller andern, schwächern Flecken dient*. Hierauf verschiebt man den Spalt bis auf die dichteste Stelle des nächsten Fleckens und reguliert nun die Empfindlichkeit des Instrumentes, bis der gleiche Scheitelwert eingestellt ist wie bei der ersten Messung. Eine solche Variation der Empfindlichkeit ist beim Hilger-Spektrallinien-Photometer mit Hilfe eines Knopfes auf der rechten Seite des Instrumentes ohne weiteres möglich. Bei andern Photometern müsste geprüft werden, in welcher Weise sich gleiche Bedingungen erreichen lassen. Nachdem so auf gleichen Scheitelwert eingestellt wurde, misst man den Fleck vollständig durch, wozu 10—15 Ablesungen erforderlich sind. In gleicher Weise wird bei den übrigen Flecken vorgegangen.

Die abgelesenen Skalenwerte werden dann auf mm-Papier aufgetragen, und man erhält als Funktion der Weglänge eine Glockenkurve nach Art der Fig. 5 und 7. In der Regel verläuft die Basislinie fast waagrecht (gleich heller Untergrund).

Der Flächenwert zwischen Basislinie und Glockenkurve wird am einfachsten ermittelt, indem man das Papierstück ausschneidet und wägt. Dies ergibt den Flächenwert in mg.

Man trägt die 3 oder 4 Flächenwerte der Testproben (Fig. 8) in Abhängigkeit der Substanzmenge (γ) auf mm-Papier auf und ermittelt auf Grund dieser annähernd geraden Eichlinie graphisch den Gehalt der zugehörigen Proben.

Wegen der unvermeidbaren und unkontrollierbaren Streuungen ist es nicht möglich, sich auf eine einmal aufgestellte Eichkurve zu stützen, sondern die unbekannte Probe muss immer Seite an Seite mit Testproben chromatographiert werden, anhand derer dann die Auswertung erfolgt.

2. Vergleich von Messungen am Diapositiv und am Negativ

Es liegt viel näher und erscheint einfacher, nicht ein Diapositiv, sondern das direkt erhaltene Negativ im Spektrallinien-Photometer auszumessen, wie dies andernorts bereits vorgeschlagen wurde. Wie unsere Messungen ergaben, waren die Ausschläge am Photometer beim Negativ jedoch in der Regel geringer als beim Diapositiv. Dies zeigte sich nicht nur in der absoluten Grösse des Ausschlages, sondern bei steigenden Mengen Substanz auch im Zurückbleiben der entsprechenden Flächenwerte hinter den Werten, welche bei einer geradlinigen Relation gefunden worden wären. Tab. 3 und Fig. 9 bringen einen Vergleich der bei der Auswertung eines Diapositivs und eines Negativs desselben Chromatogramms erhaltenen Zahlen. Es handelt sich um Chromatogramme von Glycerin-Testlösungen. A und B können nicht direkt miteinander verglichen werden, da die Versuchsbedingungen nicht genau die gleichen waren.

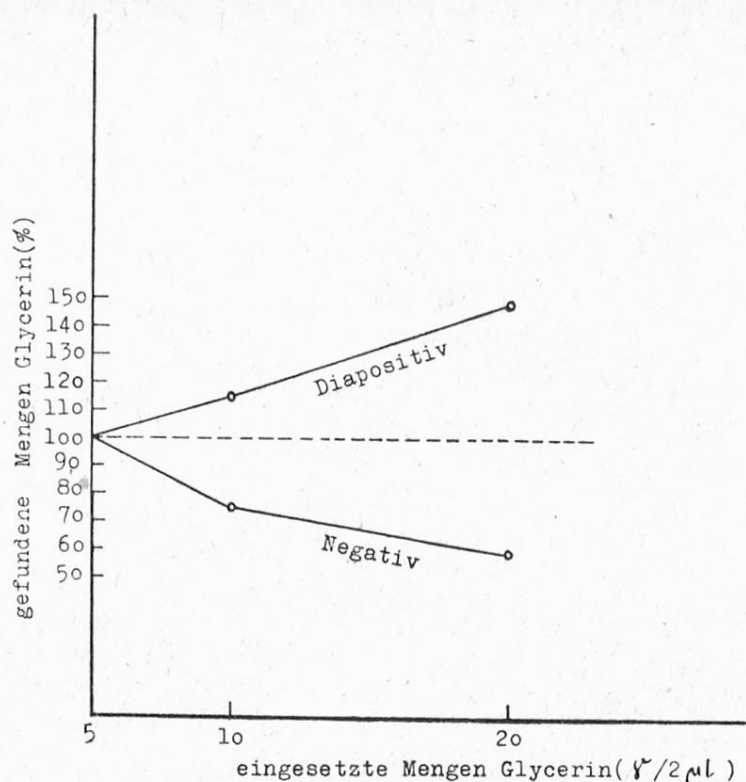
Die Tab. 3 und Fig. 9 zeigen weiter, dass nicht nur die absoluten Werte an sich im Negativ weniger differieren als im Positiv, sondern ganz besonders auch die Unterschiede zwischen Schwärzung des Fleckens und des Hintergrundes. Im Positiv werden dementsprechend die Differenzen überbetont, was für die Messung günstig ist. Im Negativ ist das Umgekehrte der Fall. Die Messung wird weniger genau und im Sinne der Auswertung schlechter. Wir haben darum zum Schluss fast ausschliesslich mit Diapositiven gearbeitet.

Tabelle 3

| Diapositiv | | | | | | | | | | |
|--------------|-------------------------|--------------|--|---|---------------------------|-------------------------|--------------|--|---|---------------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
| A | | | | | | B | | | | |
| Fleck Nr. | Flächenwert gefunden | | Menge Glycerin einge- setzt $\gamma/2 \mu l$ | Menge Glycerin dem Flächenwert entsprechend | | Flächenwert gefunden | | Menge Glycerin einge- setzt $\gamma/2 \mu l$ | Menge Glycerin dem Flächenwert entsprechend | |
| | Einzel mg | Mittel mg | | $\gamma/2 \mu l$ | % der einges. Menge | Einzel mg | Mittel mg | | $\gamma/2 \mu l$ | % der einges. Menge |
| 1 | 46,9 56,3 | 51,6 | 5,0 | 5,0 | 100,0 | 44,4 40,5 | 42,0 | 5,0 | 5,0 | 100,0 |
| 2 | 102,4 122,7 | 112,5 | 10,0 | 10,9 | 109 | 103,0 101,9 | 102,4 | 10,0 | 12,2 | 122 |
| 3 | 329,1 262,6 | 295,8 | 20,0 | 28,6 | 143 | 259,2 252,7 | 256,2 | 20,0 | 30,5 | 152 |

| Negativ | | | | | | | | | | |
|--------------|-------------------------|--------------|--|---|---------------------------|-------------------------|--------------|--|---|---------------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
| A | | | | | | B | | | | |
| Fleck Nr. | Flächenwert gefunden | | Menge Glycerin einge- setzt $\gamma/2 \mu l$ | Menge Glycerin dem Flächenwert entsprechend | | Flächenwert gefunden | | Menge Glycerin einge- setzt $\gamma/2 \mu l$ | Menge Glycerin dem Flächenwert entsprechend | |
| | Einzel mg | Mittel mg | | $\gamma/2 \mu l$ | % der einges. Menge | Einzel mg | Mittel mg | | $\gamma/2 \mu l$ | % der einges. Menge |
| 1 | 86,6 89,2 | 87,9 | 5,0 | 5,0 | 100,0 | 84,5 73,2 | 78,8 | 5,0 | 5,0 | 100,0 |
| 2 | 137,9 130,9 | 134,4 | 10,0 | 7,6 | 76 | 126,4 110,7 | 118,5 | 10,0 | 7,5 | 75 |
| 3 | 210,3 191,0 | 200,6 | 20,0 | 11,4 | 57 | 201,5 192,7 | 197,1 | 20,0 | 12,5 | 62 |

Fig.9



3. Herstellung der Diapositive

Es besteht einerseits die Möglichkeit, die Diapositive durch Verkleinerung aus 9/12-Negativen herzustellen, anderseits von Leica-Negativen auszugehen und diese zu kopieren. Wir haben beide Methoden in einer Versuchsreihe miteinander verglichen, indem wir das gleiche Chromatogramm sowohl im 9/12- wie im Leica-Format aufnahmen und daraus je ein Kleinbild-Diapositiv herstellten. Beide wurden in der beschriebenen Weise im Photometer ausgewertet.

Die Diapositive aus Leica-Negativen ergaben durchwegs beträchtlich höhere Flächenwerte, sie waren härter und kontrastreicher. Kleine Ungleichheiten traten stärker hervor, was bei der Auswertung sich ungünstig bemerkbar machte. Für die nähere Ausarbeitung der Methodik anhand einzelner Verdünnungsreihen, wie sie im nächsten Abschnitt beschrieben wird, gelangten darum nur Diapositive, hergestellt aus 9/12-Negativen, zur Auswertung.

C. Die photometrische Auswertung von Papierchromatogrammen reiner Testlösungen

1. Herstellung der Chromatogramme

Nachdem so abgeklärt worden war, welche Punkte bei der photometrischen Auswertung zu beachten sind, ging man daran, die Chromatogramme verschiedener reiner Verbindungen, wichtiger Komponenten von Lebensmitteln und Naturstoffen, mit dieser Methode auszumessen. Diese Versuche an reinen Sub-

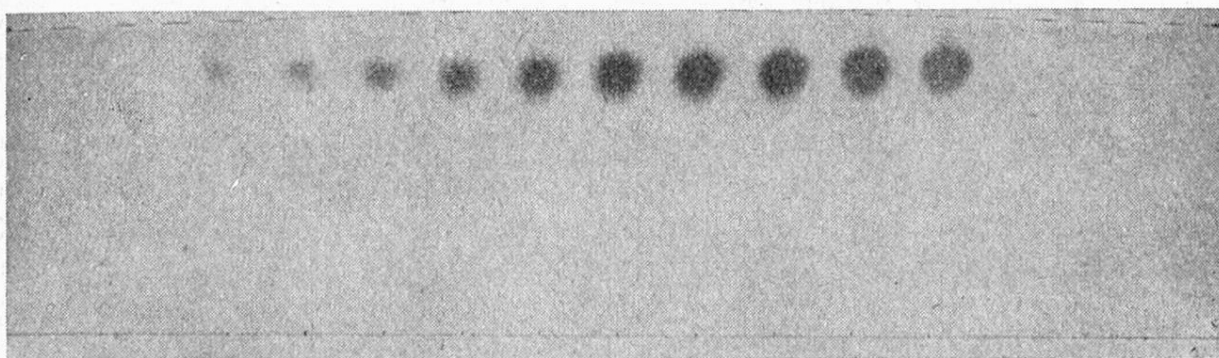


Abb. 1
Oxymethylfurfurol-Verdünnungsreihe
1,25—80 $\gamma/2 \mu\text{l}$
Butanol-Äthanol-Wasser = 4,0 : 1,1 : 1,9

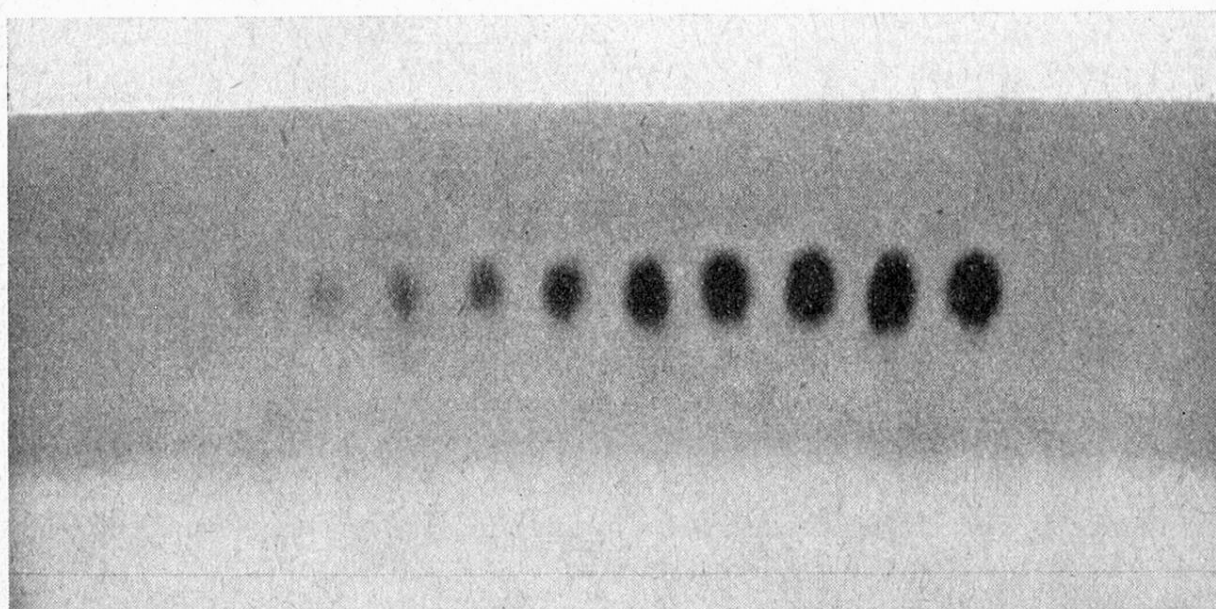


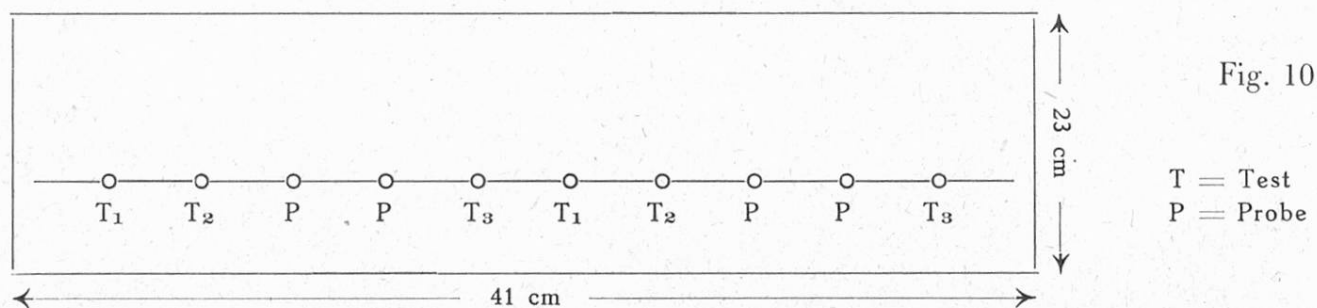
Abb. 2
Glycerin-Verdünnungsreihe
1,25—120 $\gamma/2 \mu\text{l}$
Äthylacetat-Pyridin-Wasser = 2,5 : 1,0 : 3,5

stanzen mussten als Grundlage für die spätere Bestimmung derselben in praktischen Fällen (vgl. III. Teil dieser Arbeit) und zur Abklärung einiger methodischer Fragen über Reproduzierbarkeit, Relation zwischen eingesetzter Substanzmenge und gefundenem Flächenwert der Flecken, Empfindlichkeit der Farbreaktionen usw. dienen.

Es wurden Chromatogramme der Verdünnungsreihen von Alanin, Oxymethylfurfurol, Glycerin, Colaminchlorid und Cholinchlorid hergestellt. Lösungen mit einem Gehalt von 1,5—160 $\gamma/\mu\text{l}$ in Verdünnungsreihen von $1/2$, $1/4$, $1/8$, $1/16$ wurden

behandelt. Im Gebiet höherer Konzentrationen wählte man zum Teil andere Abstufungen. Jede Verdünnungsreihe umfasste etwa 10 verschiedene Konzentrationen (vgl. Abb. 1 und 2).

In der Regel brachte man 2 μ l, bei Alanin und Oxymethylfurfurol auch 3—4 μ l auf das Papier, chromatographierte, machte die Flecken sichtbar, stellte die Diapositive bzw. Negative her und photometrierte sie. Bei Bestimmung der genannten Substanzen in Lebensmitteln müssen gewisse vorbereitende Operationen ausgeführt werden, wie Konzentrierung oder Verdünnung, Befreiung von Alkohol oder Säure und anderes mehr. Die Einzelheiten sind für Glycerin und Oxymethylfurfurol in Teil III aufgeführt. Die Testlösungen wurden in der Weise hergestellt, dass man die betr. Reinsubstanz im Wasser + 10 % Isopropylalkohol löste. In dieser Weise war eine gute Konservierung gewährleistet. Die Probe unbekannten Gehaltes wurde neben den Testproben auf das Papier verbracht, wobei die nachfolgende Anordnung sich als günstig erwies:



Wenn vermutet wird, dass die in der Probe enthaltene Menge zwischen T_2 und T_3 liegt, sollte für genaue Bestimmungen die Anordnung wie oben gewählt werden. In dieser Weise werden Unterschiede in der Gleichmässigkeit des Papiers und dgl. möglichst ausgeglichen. Liegt die Probe vermutlich zwischen T_1 und T_2 , so ist entsprechend zu verschieben, dass die Testproben 1 und 2 möglichst nahe an die zu messenden Flecken kommen.

Wenn nicht weitgehende Genauigkeit angestrebt, sondern eine Orientierung über eine grössere Anzahl von Proben erreicht werden soll, kann ein Blatt mit möglichst vielen Proben neben einigen Testpunkten belegt werden. Auf einem Papierblatt von 41 cm Länge lassen sich maximal 20—25 Flecken entwickeln. Werden die Abstände noch kleiner gewählt, so ist eine gegenseitige Beeinflussung zu befürchten.

Man chromatographierte aufsteigend nach der Zylindermethode²¹⁾. Die speziellen Versuchsbedingungen bezüglich Substanz, Papier, Lösungsmittel, Entwicklung, Sichtbarmachen sind der Tab. 4 zu entnehmen.

Zum Sichtbarmachen der Chromatogramme wurde nach Möglichkeit das Besprühen, wie es für qualitative Zwecke üblich ist, dadurch ersetzt, dass man die Reagenzien — Ninhydrin, Silbernitrat, Naphthoresorcin — direkt in der Entwicklungsflüssigkeit auflöste¹⁵⁾⁴⁹⁾⁴⁷⁾. Die Reagenzien störten bei der chromatographischen Entwicklung nicht. Nach Entfernung des Lösungsmittels liess

Tabelle 4

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|-----|------------------------|--------------------------------------|---|-------------|--|--|---------------------------------|
| Nr. | Substanz | Papier | Entwicklung | | Sichtbarmachung | | |
| | | | Lösungsmittel- gemisch (Volumteile) | Zeit | Reagens | Behandlung des Papiers | Beste Kon- traste nach |
| 1 | Glycerin | Whatman 1 | Äthylacetat : Pyridin : Wasser = 2,5 : 1,0 : 3,5 | 2-3 Std. | AgNO ₃ im Lös'gsmittel (0,15 n) ¹⁵⁾ | Ammoniak- dämpfe 1 Std., dann Trocken- schrank, 100 ⁰ , 15 Minuten | 12 Std. |
| 2 | Oxymethyl- furfurol | Whatman 1 | Butanol : Äthanol : Wasser = 4,0 : 1,1 : 1,9 | 3 Std. | Naphthore- sorc in im Lös'gsmittel (0,1 %) ¹⁶⁾ | Salzsäuregas, Zimmer- temperatur | 10 Min. |
| 3 | Alanin | Whatman 1 | Äthylacetat : Pyridin : Wasser = 2 : 1 : 2 | 3 Std. | Ninhydrin im Lösungs- mittel (0,1 %) ¹⁷⁾ | Zimmer- temperatur | 2-3 Std. |
| 4 | Colamin- chlorid | Whatman 1 | Äthylacetat : Pyridin : Wasser = 2 : 1 : 2 Zusatz von Diäthylamin + KCN | 3 Std. | Ninhydrin in Methyl- cellosolve- Acetatpuffer (0,5 %) ²³⁾ | Besprühen, Trocken- schrank, 90 ⁰ | 10 Min. |
| 5 | Cholin- chlorid | Schleicher & Schüll Nr. 2043 a | Tert. Butanol : Methanol : Wasser = 4 : 5 : 1 | 3 Std. | P-Mo-Säure in Chloro- form: Alkohol = 1 : 1 (1 %) ¹⁸⁾ | Besprühen, 20 Minuten waschen in fliessendem Wasser, Trocknen | sofort |
| | | | | | SnCl ₂ in 3n-HCl (1 %) ²⁵⁾ | Besprühen | |

man die Papiere an der Luft stehen (Alanin), bzw. erhitzte im Trockenschrank nach Behandlung mit Ammoniakgas (Glycerin), bzw. behandelte mit Salzsäuregas (Oxymethylfurfurol), worauf die farbigen Flecken hervortraten, ohne in weitere Berührung mit einer flüssigen Phase gekommen zu sein. Auf diese Weise erhielt man über den ganzen Bereich des Papierbogens eine gleichmässige Verteilung des Reagens, gleichmässiger, als dies selbst bei sehr sorgfältigem Besprühen erreicht werden kann. Dadurch, dass man das Aufspritzen der meist wasser-

haltigen Reagenslösungen vermieden, werden die Flecken unverändert, so wie sie nach dem Entwickeln vorliegen, sichtbar gemacht, und man vermeidet alle unkontrollierbaren Vorgänge der Diffusion und Ausbreitung der Flecken auf dem Papier.

2. Die Reproduzierbarkeit der Papierchromatogramme

Von beträchtlicher Bedeutung für die Beurteilung der Methode erschien es, zu wissen, wie gross einerseits die Streuung zwischen Parallelversuchen auf dem gleichen Papierbogen, andererseits zwischen Parallelversuchen auf verschiedenen Blättern war.

Zur Abklärung eignete sich die Reihe von 6 Papierchromatogrammen von Glycerin-Testlösungen, die uns zur Verfügung stand (Tab. 5).

Je 5, 10, 20 γ Glycerin / 2 μ l waren in ziemlich grossem Abstand voneinander je 2- oder 3mal auf das gleiche Papierblatt gebracht, chromatographiert, die Flächenwerte mit dem Photometer bestimmt und die Flächenmittelwerte für jedes Blatt berechnet worden. Hierauf untersuchte man

- a) die Abweichungen der Einzelwerte von diesen Flächenmittelwerten innerhalb der gleichen Serie;
- b) daneben wurde der Gesamtmittelwert über die 6 Flächenmittelwerte gebildet und die mittlere Abweichung für die 6 Serien berechnet. Auf diese Weise erhielt man ein Bild, wie die Flächenmittelwerte von Papierbogen zu Papierbogen variierten.

Für die Glycerinchromatogramme ergibt sich, dass die mittlere Streuung der Flächenwerte innerhalb einer Serie mit steigender Substanzmenge abnimmt: 10,2 bzw. 9,2 bzw. 7,7 % für 5 bzw. 10 bzw. 20 γ/μ l. Die Werte liegen also um 10 % oder deutlich darunter, was in Anbetracht der geringen Substanzmengen, der Ungenauigkeit bei der Abmessung von 2 μ l mit der Kapillarpipette, ferner der Unhomogenität in der Struktur des Papiers auch des gleichen Blattes, noch als befriedigend anzusehen ist. Es können auch Ungleichmässigkeiten beim Besprühen eine Rolle gespielt haben, denn bei den Chromatogrammen von Tab. 5 war das Besprühen noch nicht durch das Auflösen des Silbernitrats in der Entwicklungsflüssigkeit ersetzt worden. Es zeigte sich, dass bei Anwendung dieser neuen Technik die Parallelversuche auf dem gleichen Papierbogen im allgemeinen noch besser übereinstimmten, obschon auch hier gelegentlich einzelne Werte aus der Reihe fielen.

Wesentlich grösser ist die Streuung der Flächenmittelwerte von Papierbogen zu Papierbogen. Sie berechnet sich im Mittel zu 21,6 bzw. 18,6 bzw. 15,2 % für 5 bzw. 10 bzw. 20 $\gamma/2 \mu$ l Glycerin. Hier kommen eben noch Ungleichmässigkeiten in den äussern Bedingungen bei der Handhabung der einzelnen Papierchromatogramme hinzu, die sich in der Praxis nie ganz vermeiden lassen. Es sei die verschiedene Lage der Papiere im Ofen oder geringe Variationen in der Dauer des Erhitzens erwähnt. Ferner kann die Inhomogenität des Papiers hier noch von grösserem Einfluss sein als bei Versuchen auf dem gleichen Blatt.

Tabelle 5

| Eingesetzte Menge Glycerin: 5 γ /2 μ l | | | | | Eingesetzte Menge Glycerin: 10 γ /2 μ l | | | | | Eingesetzte Menge Glycerin: 20 γ /2 μ l | | | | |
|---|--------------------------|--------------------------|--|------------|--|--------------------------|--------------------------|--|------------|--|--------------------------|--------------------------|--|------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Papierchromatogramm Nr. | Flächenwerte gefunden | | Mittlere Abweichung vom Flächenmittelwert | | Papierchromatogramm Nr. | Flächenwerte gefunden | | Mittlere Abweichung vom Flächenmittelwert | | Papierchromatogramm Nr. | Flächenwerte gefunden | | Mittlere Abweichung vom Flächenmittelwert | |
| | Einzel mg | Mittel mg | mg | ‰ | | Einzel mg | Mittel mg | mg | ‰ | | Einzel mg | Mittel mg γ | mg | ‰ |
| I | 65,3 39,9 69,6 | 58,3 | $\pm 12,2$ | $\pm 20,9$ | I | 130,6 94,9 147,6 | 124,3 | $\pm 19,7$ | $\pm 15,8$ | I | 272,9 270,6 263,9 | 269,1 | $\pm 3,5$ | $\pm 1,3$ |
| II | 64,9 63,8 58,1 | 62,3 | $\pm 2,7$ | $\pm 4,3$ | II | 141,3 131,9 109,9 | 127,7 | $\pm 11,8$ | $\pm 9,2$ | II | 339,2 328,6 365,5 | 344,4 | $\pm 14,0$ | $\pm 4,1$ |
| III | 71,8 61,5 60,1 | 64,5 | $\pm 4,9$ | $\pm 7,6$ | III | 136,5 147,1 118,9 | 134,1 | $\pm 10,2$ | $\pm 7,6$ | III | 301,6 350,2 385,7 | 345,8 | $\pm 29,5$ | $\pm 8,5$ |
| IV | 34,5 27,6 | 31,0 | $\pm 3,5$ | $\pm 11,3$ | IV | 84,3 67,6 | 75,9 | $\pm 8,4$ | $\pm 11,0$ | IV | 219,3 190,9 | 205,1 | $\pm 14,2$ | $\pm 6,9$ |
| V | 80,1 95,1 98,5 | 91,2 | $\pm 7,4$ | $\pm 8,1$ | V | 191,5 186,3 202,1 | 193,3 | $\pm 5,8$ | $\pm 3,0$ | V | 296,8 339,9 430,8 | 355,8 | $\pm 50,0$ | $\pm 14,0$ |
| VI | 46,9 56,3 | 51,6 | $\pm 4,7$ | $\pm 9,1$ | VI | 102,4 122,7 | 112,5 | $\pm 10,1$ | $\pm 9,0$ | VI | 262,6 329,1 | 295,8 | $\pm 33,2$ | $\pm 11,2$ |
| Gesamt- mittelwert | | 59,8 | $\pm 5,9$ | $\pm 10,2$ | Gesamt- mittelwert | | 127,9 | $\pm 11,0$ | $\pm 9,2$ | Gesamt- mittelwert | | 302,7 | $\pm 24,1$ | $\pm 7,7$ |
| Mittlere Abweichung v. Gesamt- mittelwert | mg ‰ | $\pm 12,9$ $\pm 21,6$ | | | Mittlere Abweichung v. Gesamt- mittelwert | mg ‰ | $\pm 23,8$ $\pm 18,6$ | | | Mittlere Abweichung v. Gesamt- mittelwert | mg ‰ | $\pm 46,0$ $\pm 15,2$ | | |

Die Berechnung lässt jedenfalls den Schluss zu, dass bei der quantitativen Papierchromatographie dieser Art nicht mit einer ein für allemal festgelegten Eichkurve gearbeitet werden kann, sondern dass bei jeder Serie die Testproben mitlaufen müssen.

Bei den andern von uns untersuchten Substanzen stand uns kein so umfangreiches Material gleichartiger Messungen zur Verfügung wie bei Glycerin. Soweit wir uns anhand der vorhandenen Zahlen ein Urteil bilden können, scheint die Streuung der Einzelwerte innerhalb einer Serie sowie von Serie zu Serie (auf verschiedenen Papierbögen) bei Alanin, Colamin und Cholin von der gleichen Grössenordnung wie bei Glycerin zu sein.

Bei Oxymethylfurfurol liegen die Verhältnisse etwas anders: trotz einer relativ etwas grösseren Streuung der Einzelwerte auf dem gleichen Papier wurden bei mehreren Serien auf verschiedenen Bögen und zu verschiedenen Zeiten recht gut übereinstimmende Mittelwerte gefunden.

3. Die Proportionalität zwischen Substanzmenge und Flächenwert

a) Variation der Flüssigkeitsmenge bei gleichbleibender Substanzmenge

Bei der densitometrischen Auswertung von Papierchromatogrammen einer Alanin-Verdünnungsreihe schreibt *Patton*⁴⁸⁾ vor, dass man mit einer Flüssigkeitsmenge von nur 2 μ l am besten chromatographieren könne. Es stellte sich die Frage, ob auch bei der photometrischen Messung diese Menge am günstigsten sei. Wir untersuchten daher systematisch den Einfluss der Flüssigkeitsmenge auf die Relation zwischen eingesetzter Substanzmenge und erhaltenem Flächenwert der Flecken. Dazu diente uns eine Alanin- und Oxymethylfurfurol-Verdünnungsreihe, wobei mit 2, 3 und 4 μ l gearbeitet wurde. Dabei war festzustellen, bei welcher Flüssigkeitsmenge die erhaltenen Punkte am wenigsten von einer Geraden und damit von der Proportionalität abweichen.

Für die Alaninreihe ergibt sich aus Tab. 6 (Kolonne 4) und Fig. 11, dass tatsächlich bei Anwendung von 2 μ l die Proportionalität über den grössten Konzentrationsbereich erhalten bleibt, und zwar bis 53 γ mit einer mittleren Abweichung von +2,4 % (30 γ als Bezugswert). Bei 3 μ l und 4 μ l zeigt die Kurve eine viel stärkere Krümmung.

Etwas anders liegen die Verhältnisse bei den Oxymethylfurfurol-Verdünnungsreihen (Tab. 7 und Fig. 12). Hier wird die lineare Beziehung bei 4 μ l am besten erreicht, und zwar bis 40 γ . Bei grössern Mengen biegt die Kurve auch hier stark nach rechts ab.

Bei den Glycerin-, Colamin-, Cholin-Verdünnungsreihen, die wir auch chromatographisch auswerteten, wurden solche Versuche zur Ermittlung der günstigsten Flüssigkeitsmenge nicht mehr durchgeführt. Es wurde immer mit 2 μ l chromatographiert, wobei sich gute Resultate erhalten liessen.

Tabelle 6

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|-------------------------------------|----------------------------|-----------------------|--------------------------|----------------------------|-----------------------|--------------------------|----------------------------|-----------------------|--------------------------|
| Menge Alanin eingesetzt γ | 2 μ l | | | 3 μ l | | | 4 μ l | | |
| | Flächenwert gefunden mg | Menge Alanin gefunden | | Flächenwert gefunden mg | Menge Alanin gefunden | | Flächenwert gefunden mg | Menge Alanin gefunden | |
| | | $\gamma/2 \mu$ l | % der eingesetzten Menge | | $\gamma/3 \mu$ l | % der eingesetzten Menge | | $\gamma/4 \mu$ l | % der eingesetzten Menge |
| 5,0 | 43,0 | 5,0 | 100 | 56,0 | 6,4 | 128 | 38,0 | 4,3 | 86 |
| 10,0 | 97,0 | 11,4 | 114 | 112,5 | 13,0 | 130 | 90,0 | 10,2 | 102 |
| 20,0 | 181,0 | 21,2 | 106 | 197,0 | 22,7 | 113 | 186,0 | 21,2 | 106 |
| 30,0 | 256,0 | 30,0 | 100,0 | 260,0 | 30,0 | 100,0 | 263,0 | 30,0 | 100,0 |
| 40,0 | 332,5 | 39,0 | 97 | 323,0 | 37,3 | 93 | 326,0 | 37,2 | 93 |
| 53,4 | 437,9 | 51,3 | 96 | 367,0 | 42,3 | 79 | 411,4 | 46,8 | 87 |

Tabelle 7

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|--|----------------------------|----------------------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------------------|--------------------------|
| Menge Oxymethylfurfurol eingesetzt γ | 2 μ l | | | 3 μ l | | | 4 μ l | | |
| | Flächenwert gefunden mg | Menge Oxymethylfurfurol gefunden | | Flächenwert gefunden mg | Menge Oxymethylfurfurol gefunden | | Flächenwert gefunden mg | Menge Oxymethylfurfurol gefunden | |
| | | $\gamma/2 \mu$ l | % der eingesetzten Menge | | $\gamma/3 \mu$ l | % der eingesetzten Menge | | $\gamma/4 \mu$ l | % der eingesetzten Menge |
| 2,5 | 42,0 | 2,4 | 96 | 26,0 | 2,0 | 82 | 31,0 | 2,4 | 96 |
| 5,0 | 91,0 | 5,2 | 105 | 55,0 | 4,3 | 86 | 60,0 | 4,7 | 95 |
| 10,0 | 202,0 | 11,7 | 117 | 125,0 | 9,8 | 98 | 133,0 | 10,5 | 105 |
| 15,0 | — | — | — | 190,0 | 15,0 | 100,0 | — | — | — |
| 20,0 | 345,0 | 20,0 | 100,0 | 225,0 | 17,8 | 89 | 254,0 | 20,0 | 100,0 |
| 30,0 | 372,0 | 21,6 | 71 | 294,0 | 23,2 | 77 | 390,0 | 30,7 | 102 |
| 40,0 | 400,0 | 23,2 | 58 | 327,0 | 25,8 | 64 | 530,0 | 41,7 | 104 |

b) Variation der Substanzmenge bei gleichbleibender Flüssigkeitsmenge

Fisher und Mitarbeiter ¹¹⁾ erwähnen in ihrer Arbeit kurz, dass die photometrische Methode nur über einen beschränkten Konzentrationsbereich zu linearen Beziehungen zwischen Substanzmenge und Flächenwert führt. Wir prüften dies in der Weise nach, dass bei jeder Reihe die Konzentration ($\gamma/2 \mu$ l) so lang erhöht wurde, bis die Proportionalität in grober Weise gestört erschien, so dass die quantitative Auswertung der Flecken nicht mehr erfolgen konnte. Die

Fig. 11

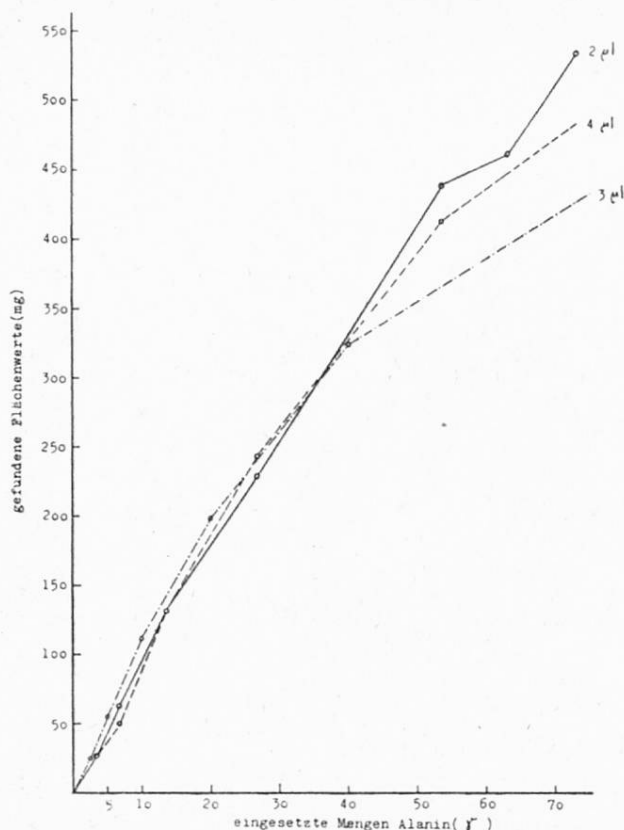
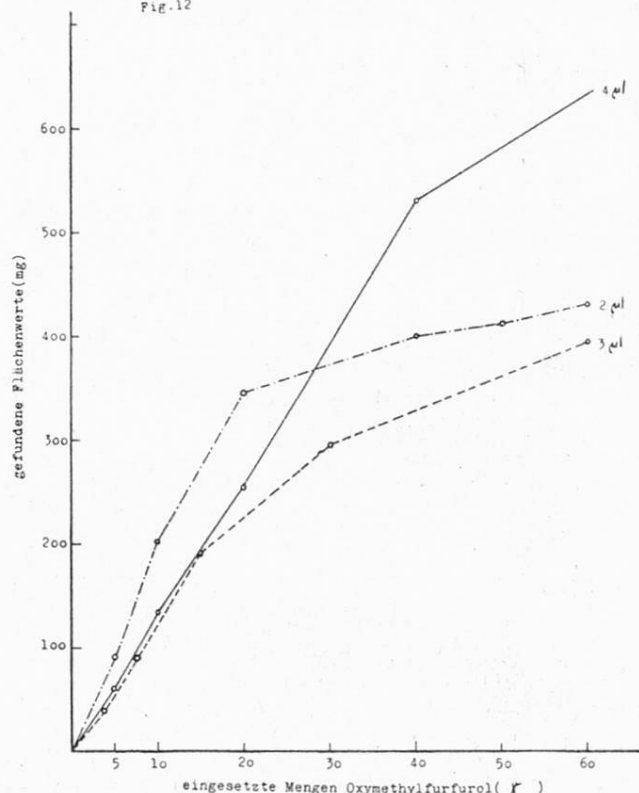


Fig. 12



Schwärzungen bzw. Färbungen wurden zu intensiv, so dass eine Abstufung der Substanzmenge weder von Auge noch mit dem Photometer mehr festgestellt werden konnte. Tab. 8 zeigt, über welchen Bereich sich die Messungen bei jeder Reihe erstreckten.

Tabelle 8

| Substanz | Untersuchter Konzentrationsbereich $\gamma/2 \mu\text{l}$ |
|-------------------------------|--|
| α) Alanin | 1,6 — 103,0 |
| β) Oxymethylfurfural | 2,5 — 160,0 *) |
| γ) Glycerin | 5,0 — 80,0 |
| δ) Colaminchlorid | 2,5 — 91,0 |
| ε) Cholinchlorid | 3,5 — 112,5 |

*) $\gamma/4 \mu\text{l}$

Der Kurvenverlauf ist für jede Substanz etwas verschieden und hängt von den speziellen Eigenschaften der betreffenden Verbindung und ihrer Farb-reaktion ab. Die Resultate der Messungen sind in den folgenden Tabellen und in Fig. 13 dargestellt.

Tabelle 9
α) Alanin-Konzentrationsreihe

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | |
|--------------|-------------------------|--------------|--|---|----------------------------------|------------------------------------|
| Fleck Nr. | Flächenwert gefunden | | Menge Alanin einge- setzt $\gamma/2 \mu\text{l}$ | Menge Alanin dem Flächenwert entsprechend | | |
| | Einzel*) mg | Mittel mg | | $\gamma/2 \mu\text{l}$ | % der ein- gesetzten Menge | |
| 1 | 15,1 17,1 | 16,1 | 1,66 | 1,9 | 109 | Abweichung im Mittel + 3,7 % |
| 2 | 26,1 27,2 | 26,6 | 3,33 | 3,1 | 93 | |
| 3 | 61,4 64,2 | 62,8 | 6,67 | 7,3 | 109 | |
| 4 | 133,2 130,5 | 131,8 | 13,35 | 15,3 | 115 | |
| 5 | 230,1 229,4 | 229,7 | 26,7 | 26,7 | 100,0 | |
| 6 | 413,4 462,5 | 437,9 | 53,4 | 51,0 | 95 | |
| 7 | 441,0 480,2 | 460,6 | 63,0 | 53,6 | 85 | Abweichung für Messung zu gross |
| 8 | 507,1 558,7 | 532,9 | 73,0 | 62,0 | 85 | |
| 9 | 529,0 599,2 | 564,0 | 83,0 | 65,6 | 79 | |
| 10 | 579,3 571,5 | 575,4 | 93,0 | 67,0 | 72 | |
| 11 | 616,7 555,6 | 586,1 | 103,0 | 68,2 | 67 | |

Tabelle 10
β) Oxymethylfurfurol-Konzentrationsreihe

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | |
|--------------|-------------------------|--------------|---|---|----------------------------------|--------------------------|
| Fleck Nr. | Flächenwert gefunden | | Menge Oxy- methyl- furfurol einge- setzt $\gamma/4 \mu\text{l}$ | Menge Oxymethylfurfurol dem Flächenwert entsprechend | | |
| | Einzel*) mg | Mittel mg | | $\gamma/4 \mu\text{l}$ | % der ein- gesetzten Menge | |
| 1 | 25,9 33,5 | 29,7 | 2,5 | 2,3 | 92 | günstiger Messbereich |
| 2 | 61,5 56,5 | 59,0 | 5,0 | 4,6 | 92 | |
| 3 | 164,7 103,2 | 133,9 | 10,0 | 10,5 | 105 | |
| 4 | 271,1 238,2 | 254,6 | 20,0 | 20,0 | 100,0 | |
| 5 | 583,1 483,3 | 533,0 | 40,0 | 41,9 | 104 | |
| 6 | 750,5 722,0 | 736,2 | 80,0 | 57,8 | 72 | |
| 7 | 603,5 598,2 | 600,8 | 100,0 | 47,2 | 47 | |
| 8 | 609,0 468,6 | 538,8 | 120,0 | 42,3 | 35 | |
| 9 | 604,6 393,8 | 499,2 | 140,0 | 39,2 | 28 | |
| 10 | 585,9 323,2 | 454,5 | 160,0 | 35,7 | 22 | |

*) auf verschiedenen Papierbogen

Tabelle 11
 γ) Glycerin-Konzentrationsreihe

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | |
|--------------|-------------------------|--------------|---|--|----------------------------------|---|-------------------------|
| Fleck Nr. | Flächenwert gefunden | | Menge Glycerin eingesetzt $\gamma/2 \mu\text{l}$ | Menge Glycerin dem Flächenwert entsprechend | | | |
| | Einzel mg | Mittel mg | | $\gamma/2 \mu\text{l}$ | % der ein- gesetzten Menge | % der einge- setzten Men- ge, Mittel aus 20 Chroma- togrammen | |
| 1 | 25,2 43,9 | 34,5 | 5,0 | 3,5 | 70 | 73 | } günstiger Messbereich |
| 2 | 57,0 97,2 | 77,0 | 10,0 | 7,7 | 77 | 81 | |
| 3 | 235,3 163,4 | 199,3 | 20,0 | 20,0 | 100,0 | 100,0 | |
| 4 | 459,8 363,4 | 411,6 | 40,0 | 41,2 | 103 | — | |
| 5 | 760,1 648,4 | 704,2 | 60,0 | 70,1 | 117 | — | |
| 6 | 722,4 694,5 | 708,4 | 80,0 | 71,0 | 88 | — | |

α) Alanin

Tab. 9 ist zu entnehmen, dass von 1,66 bis 53 $\gamma/2 \mu\text{l}$ die Abweichung von der Geraden im Mittel nur +3,7 % beträgt, wenn man die eingesetzte Alaninmenge von 26,7 $\gamma/2 \mu\text{l}$ als Bezugswert wählt. Oberhalb etwa 53 $\gamma/2 \mu\text{l}$ beginnt die Alaninkurve immer mehr von der Geraden nach rechts abzuweichen, d.h. die entsprechenden Mengen bleiben immer mehr hinter dem Bezugswert zurück (Kolonne 6).

Der günstige Arbeitsbereich liegt also unterhalb 50 $\gamma/2 \mu\text{l}$.

β) Oxymethylfurfurol

Es ergibt sich aus Tab. 10, dass bis 40 $\gamma/4 \mu\text{l}$ die Kurve fast in der Geraden liegt, die Abweichung beträgt nur —0,8 % im Mittel. Nachher weicht sie stark nach rechts ab, um nach 80 $\gamma/4 \mu\text{l}$ sogar zu sinken, d.h. die Flächenwerte nehmen trotz steigenden Substanzmengen ab. Diese Erscheinung treffen wir bei keiner der andern Reihen. Vermutlich hängt dies irgendwie mit der Farbbildung zusammen. Führt man die Messung mit einer Flüssigkeitsmenge von 2 μl durch, so biegt die Kurve schon bei 20 γ scharf nach rechts ab.

γ) Glycerin

Die Glycerinkurve lehnt sich im mittleren Teil von 20—40 $\gamma/2 \mu\text{l}$ eng an die Gerade an, wenn man als Bezugswert 20 $\gamma/\mu\text{l}$ wählt. Im untern Teil sind

Tabelle 12

δ) Colamin-Konzentrationsreihe

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | |
|--------------|-------------------------|--------------|--|--|-----------------------------|-------------------------|
| Fleck Nr. | Flächenwert gefunden | | Menge Colamin eingesetzt $\gamma/2 \mu\text{l}$ | Menge Colamin dem Flächenwert entsprechend | | |
| | Einzel mg | Mittel mg | | $\gamma/2 \mu\text{l}$ | % der eingesetzten Menge | |
| 1 | 70,4 49,9 | 60,3 | 2,49 | 7,1 | 285 | } günstiger Messbereich |
| 2 | 94,9 52,9 | 73,9 | 4,98 | 8,7 | 174 | |
| 3 | 134,3 99,9 | 117,1 | 9,96 | 13,8 | 138 | |
| 4 | 230,1 182,3 | 206,2 | 19,93 | 24,3 | 122 | |
| 5 | 391,5 285,6 | 338,5 | 39,86 | 39,86 | 100,0 | |
| 6 | 452,1 349,7 | 400,9 | 50,6 | 47,1 | 93 | |
| 7 | 479,8 378,4 | 429,1 | 60,6 | 50,5 | 83 | |
| 8 | 552,5 471,2 | 511,8 | 70,5 | 60,2 | 85 | |
| 9 | 590,9 518,7 | 554,8 | 80,2 | 65,24 | 81 | |
| 10 | 746,5 614,1 | 680,3 | 91,0 | 80,0 | 88 | |

Tabelle 13

ε) Cholin-Konzentrationsreihe

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | |
|--------------|-------------------------|--------------|---|---|-----------------------------|-------------------------|
| Fleck Nr. | Flächenwert gefunden | | Menge Cholin eingesetzt $\gamma/2 \mu\text{l}$ | Menge Cholin dem Flächenwert entsprechend | | |
| | Einzel mg | Mittel mg | | $\gamma/2 \mu\text{l}$ | % der eingesetzten Menge | |
| 1 | 18,4 7,8 11,1 | 12,4 | 6,95 | 2,4 | 35 | } günstiger Messbereich |
| 2 | 51,5 26,2 34,7 | 37,5 | 13,9 | 7,3 | 52 | |
| 3 | 151,0 99,0 102,2 | 117,4 | 27,8 | 23,0 | 83 | |
| 4 | 338,3 233,5 279,5 | 283,7 | 55,6 | 55,6 | 100,0 | |
| 5 | 294,0 402,7 332,7 | 343,1 | 68,1 | 67,2 | 99 | |
| 6 | 438,4 401,8 350,3 | 396,8 | 79,3 | 77,7 | 98 | |
| 7 | 598,9 493,0 409,4 | 500,4 | 88,8 | 98,2 | 110 | |
| 8 | 688,5 590,9 453,6 | 577,7 | 99,0 | 113,4 | 114 | |
| 9 | 753,2 667,1 628,9 | 683,0 | 112,5 | 134,0 | 119 | |

dagegen die den gefundenen Flächenwerten entsprechenden Glycerinmengen zu gering, von 40—60 γ sind sie zu gross. Oberhalb 60 γ verläuft die Kurve fast waagrecht, die Flächenwerte bleiben konstant, so dass hier die Grenze der quantitativen Auswertbarkeit erreicht ist.

δ) *Colamin*

Bei diesem Aminoalkohol fällt die Kurve, auf welcher die gemessenen Werte liegen, in keinem Teil mit einer Geraden zusammen (Bezugswert 40 γ). Immerhin ist im Bereich von 5—50 $\gamma/\mu\text{l}$ der Anstieg der Kurve regelmässig und eine quantitative Auswertung der Reaktion ohne weiteres möglich, wie uns eingehende Versuche an Phosphatid-Hydrolysaten gezeigt haben. Im Rahmen dieser Arbeit können wir darauf nicht näher eingehen.

Der besondere Charakter der Kurve hängt mit der Art der Colaminflecken nach dem Entwickeln und Sichtbarmachen zusammen. Diese sind nicht so kompakt und scharf umrissen wie beim Alanin, Oxymethylfurfurol oder Glycerin, sondern stärker ausgebreitet, mit etwas verschwommenen Rändern. Eine Bestimmung der Flächengrösse wäre hier sehr ungenau, auch die densitometrische Auswertung führt zu unregelmässigen Ergebnissen. Ausserdem gelang es hier nicht, das Besprühen dadurch zu ersetzen, dass man das Ninhydrin direkt in der Entwicklungsflüssigkeit aufgelöst hätte. Die letztere muss einen Zusatz von Diäthylamin+KCN enthalten, wodurch die Farbreaktion mit Ninhydrin verhindert wird.

ϵ) *Cholin*

Werden die Cholinwerte auf einer Kurve aufgetragen, so zeigt es sich, dass dieselbe mit steigender Menge immer steiler ansteigt, im Gegensatz zu den Kurven, die bei den andern hier geprüften Stoffen erhalten wurden.

Der besondere Verlauf rührt davon her, dass das Papierchromatogramm nach dem Entwickeln und Besprühen mit P-Mo-Säure (Tabelle 4, Kolonne 7) längere Zeit (20 Minuten) im fliessenden Wasser vom überschüssigen Reagens, vor der weiteren Behandlung mit Stannochlorid, befreit werden muss. Dabei werden wohl gewisse Mengen der Cholin-P-Mo-Säureverbindung herausgelöst. Diese Verluste machen sich bei kleinen Mengen relativ stärker bemerkbar als bei grössern, so dass die Empfindlichkeit im untern Teil der Kurve etwas herabgesetzt ist.

Im Vergleich zu andern Cholinbestimmungsmethoden lassen sich so aber noch ausserordentlich kleine Mengen quantitativ erfassen, und wir haben die Methode mit gutem Erfolg zur Bestimmung des Cholins in Phosphatiden angewendet, worüber wir in einer späteren Mitteilung noch näher berichten werden.

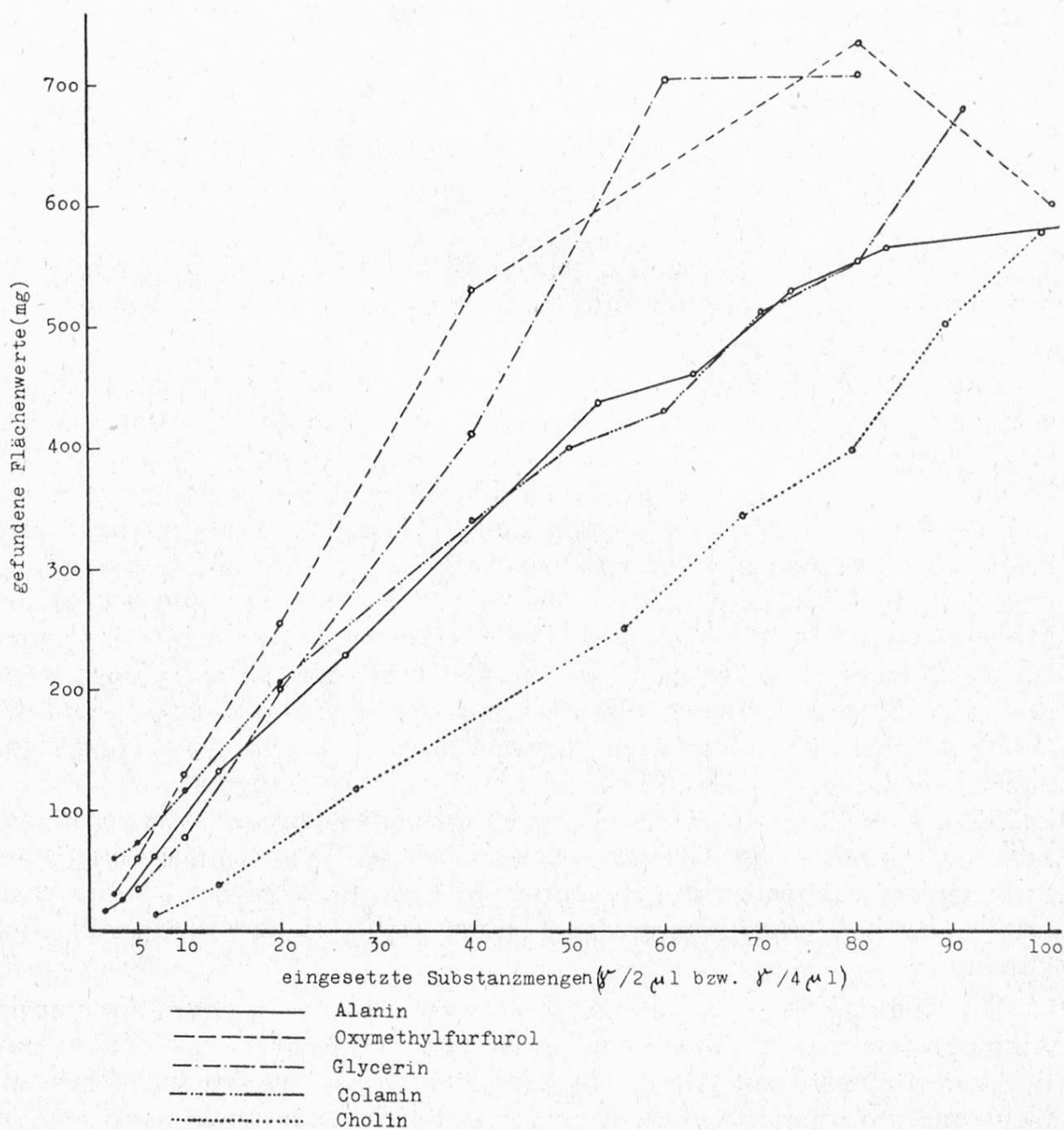
Zusammenfassend kann folgende Übersicht über die günstigen Messbereiche gegeben werden:

| | |
|----------------------|------------|
| α) Alanin | 1,5 — 60 γ |
| β) Oxymethylfurfurol | 2,5 — 40 γ |
| γ) Glycerin | 5 — 60 γ |
| δ) Colamin | 5 — 50 γ |
| ε) Cholin | 10 — 100 γ |

4. Die Empfindlichkeit der Reaktionen

In Fig. 13 sind die bisher besprochenen Konzentrationsreihen vergleichend dargestellt. Man erhält eine Übersicht der Empfindlichkeit der verschiedenen Farbreaktionen zum Sichtbarmachen der Flecken auf dem Papier.

Fig. 13



Tab. 14 zeigt eine Zusammenstellung der Flächenwerte bei den Schnittpunkten der Kurven von Fig. 13 mit 3 Parallelen zur Ordinate bei den Abszissenwerten von 10, 20, 40 γ .

Tabelle 14

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|-----|-------------------|---------------------------|-------------------|---------------------------|-------------------|---------------------------|-------------------|
| Nr. | Substanz | Konzentration | Flächenwert mg | Konzentration | Flächenwert mg | Konzentration | Flächenwert mg |
| 1 | Oxymethylfurfurol | 10 $\gamma/4 \mu\text{l}$ | 130 | 20 $\gamma/4 \mu\text{l}$ | 254 | 40 $\gamma/4 \mu\text{l}$ | 530 |
| 2 | Colaminchlorid | 10 $\gamma/2 \mu\text{l}$ | 120 | 20 $\gamma/2 \mu\text{l}$ | 208 | 40 $\gamma/2 \mu\text{l}$ | 340 |
| 3 | Alanin | 10 $\gamma/2 \mu\text{l}$ | 94 | 20 $\gamma/2 \mu\text{l}$ | 180 | 40 $\gamma/2 \mu\text{l}$ | 330 |
| 4 | Glycerin | 10 $\gamma/2 \mu\text{l}$ | 76 | 20 $\gamma/2 \mu\text{l}$ | 200 | 40 $\gamma/2 \mu\text{l}$ | 410 |
| 5 | Cholinchlorid | 10 $\gamma/2 \mu\text{l}$ | 24 | 20 $\gamma/2 \mu\text{l}$ | 74 | 40 $\gamma/2 \mu\text{l}$ | 174 |

Man sieht, dass zahlenmässig beträchtliche Unterschiede in der Empfindlichkeit bestehen, was sich auch graphisch im verschiedenen Neigungswinkel zur Abszisse zeigt.

Von 0—40 γ gibt immer die Oxymethylfurfurolreaktion die höchsten Flächenwerte. Sie ist wesentlich empfindlicher als die Ninhydrinreaktion auf Colamin bzw. Alanin. Glycerin kommt bei 10 $\gamma/2 \mu\text{l}$ an zweitletzter Stelle (Flächenwert 76 mg), bei 40 $\gamma/2 \mu\text{l}$ dagegen ist der Flächenwert (410 mg) am zweitgrössten, weil die Kurve einen relativ grossen Neigungswinkel hat und ihn auch bei höheren Konzentrationen unverändert beibehält. Weitaus am wenigsten empfindlich erweist sich die Erfassung des Cholins mit P-Mo-Säure und Reduktion zum Molybdänblau mit Stannochlorid. Die Flächenwerte liegen bis 40 γ immer beträchtlich unter allen andern (Tab. 14). Immerhin lassen sich so noch wesentlich geringere Mengen erfassen als etwa mit der Reineckat- oder Jodidmethode. Während über 80 γ die meisten andern Kurven einen geringen Neigungswinkel haben bzw. waagrecht verlaufen oder abfallen, steigt diejenige von Cholin weiter an. Man kann hier also auch mit verhältnismässig grossen Mengen quantitativ arbeiten, d.h. bis zu der Grenze, welche durch den Vorgang der Entwicklung auf dem Papier gegeben ist. Bei zu grossen Mengen (im Fall des Cholins etwa über 100 γ) tritt eine Aufspaltung der Flecken während der Wanderung auf dem Papier ein.

Die Farbreaktion von Colamin, das keine Carboxyl-, sondern nur eine primäre Aminogruppe besitzt, mit Ninhydrin ist bemerkenswerterweise ebenso empfindlich wie diejenige mit Alanin. Der Neigungswinkel bleibt auch über 80 $\gamma/2 \mu\text{l}$ nicht nur unverändert, sondern vergrössert sich sogar noch etwas.

5. Ergebnis der Untersuchungen, endgültige Methode

Die vorstehenden Darlegungen zeigen, dass eigentlich jede Substanz, die sich chromatographisch entwickeln und hernach auf dem Papier sichtbar machen lässt, schliesslich photographisch fixiert und damit quantitativ erfasst werden kann. Die Methode ist daher sehr allgemein anwendbar.

Der mittlere Fehler der Einzelmessung innerhalb einer Serie (gleicher Papierbogen) liegt bei 7—10 %. Der Fehler des Mittelwertes kann durch mehrfache Wiederholung der Bestimmung natürlich beträchtlich herabgesetzt werden. Praktisch dürfte es wohl möglich sein, eine Genauigkeit von $\pm 5\%$ bei Substanzmengen von wenigen Mikrogramm zu erreichen.

Die untere Grenze der Erfassbarkeit ist in manchen Fällen grösser als bei den Elutionsmethoden, wo zur Bestimmung immer eine gewisse Verdünnung notwendig wird. Ausserdem wirkt, wie schon erwähnt, das Diapositiv verstärkend auf die Intensität der Flecken, so dass auch ganz kleine Mengen gut erfasst werden können.

Im Unterschied zur Retentionsanalyse und den Elutionsmethoden wird das Chromatogramm vor der Auswertung sichtbar gemacht. Man vermeidet dadurch Schwierigkeiten in der Lokalisierung der auf dem Papier getrennten Substanzen, wie sie bei den Elutionsmethoden auftreten¹⁰⁾, und kann eventuell vorgekommene Ungleichmässigkeiten rechtzeitig erkennen.

Als Nachteil ist zu betrachten, dass eine absolute Reproduzierbarkeit des Chromatogrammes von Serie zu Serie nicht gelingt. Die Aufstellung einer für mehrere Messreihen gültigen Eichkurve kann daher nicht erfolgen. Doch selbst auf dem gleichen Papierbogen können infolge unkontrollierbarer Einflüsse, vor allem wohl wegen einer gewissen Inhomogenität des Papiers, einzelne Werte aus der Reihe fallen. Dadurch haftet der Methode eine gewisse Unsicherheit an, die durch mehrfache Bestimmung ausgeglichen werden muss.

Wie die in Teil III beschriebenen Anwendungsbeispiele zeigen, ist es dennoch sehr wohl möglich, an Lebensmitteln, d.h. an komplizierten Gemischen von Naturstoffen, gut übereinstimmende Werte zu erhalten.

Zusammenfassend ergibt sich folgender Arbeitsgang:

- | | |
|--|--------------|
| a) Herstellung des Papierchromatogramms: Teil II/C/1 | S. 90 |
| Günstigste Messbereiche: Teil II/C/3 | S. 96 |
| b) Anfertigung des Diapositivs bzw. Negativs: Teil II/B/2 und 3 | S. 88 und 90 |
| c) Auswertung im Spektrallinien-Photometer von Hilger: Teil II/B/1 | S. 83 |

III. Praktische Anwendung der Methode

A. Glycerinbestimmung in Süssweinen

1. Problemstellung

Der Bestimmung von Glycerin kommt in der Lebensmittelchemie beträchtliche Bedeutung zu. Ganz abgesehen von Kunstprodukten, wo eine Unterscheidung des Glycerins von anderen, physikalisch ähnlichen Substanzen (Glykolen, Phthalaten, Phosphorsäureestern) von Interesse sein kann, gibt dessen Bildungsweise als Nebenprodukt der alkoholischen Vergärung der Zuckerarten Anlass zur Entwicklung von Methoden, welche es gestatten sollen, vergorene von nichtvergorenen Produkten zu unterscheiden. Dieses Problem stellt sich einerseits bei Weinen, insbesondere bei Süssweinen, andererseits bei Essig und essigähnlichen Erzeugnissen. Sicherlich gibt es auch andere Fälle, in welchen eine Glycerinbestimmung von Bedeutung sein kann.

Die Glycerinbestimmung in Süss- und Dessertweinen bot für uns besonderes Interesse. Die verschieden hohe fiskalische Belastung sog. «Mistellen», d.h. gänzlich unvergorener, mit Alkohol stummgemachter Traubensäfte von den «echten», d.h. deutlich angegorenen Süssweinen gab Anlass hierzu.

Da der Charakter und die Qualität der schliesslich erhaltenen Weine sehr verschieden wird, je nachdem, ob ein vollständig unvergorener oder ein auch nur leicht, etwa auf 2—3 %, angegorener Most als Ausgangsmaterial diente, geht die Beurteilung gemäss Sinnenprüfung mehr oder weniger mit dem Vergärungsgrad parallel. Vor allem kommt der Erfassung der *beginnenden* Gärung grosse Bedeutung zu.

Weder die Menge an Alkohol noch diejenige an Zucker können jedoch irgendwelche Anhaltspunkte bieten, da grosse Mengen fremden Alkohols, vielfach aber auch unvergorenen Zuckers in Form von Traubensaft oder Konzentrat beigefügt werden. Man muss auf Nebengemengteile abstellen, von welchen der Glyceringehalt für die Beurteilung recht gut geeignet ist.

Nun bietet aber gerade die Glycerinbestimmung in Süssweinen beträchtliche Schwierigkeiten, wie die nachfolgende Besprechung der bisher benützten Verfahren zeigt.

- a) Das alte Kalkverfahren ²⁸⁾ ist schon bei trockenen Weinen nicht absolut exakt, vor allem aber recht umständlich und für Serienuntersuchungen wenig geeignet. Bei Süsswein gelingt die Trennung von den Zuckerarten nur schwer. Es kommt hinzu, dass die häufig verwendeten Konzentrate reichlich Oxymethylfurfurol und andere Umwandlungsprodukte von Zuckern enthalten. Diese sind noch schwieriger als der Zucker selber vom Glycerin abzutrennen.
- b) *Pritzker* ²⁹⁾ schlug vor, den durch den Zucker bedingten Fehler so auszuschalten, dass er in dem mehr oder weniger glycerinreichen Rückstand den Zucker

separat bestimmte und eine entsprechende Korrektur anbrachte. Die erwähnten Umwandlungsprodukte, wie Oxymethylfurfurol, werden aber dabei nicht erfasst, zudem ist die Methode etwas umständlich.

- c) *von Fellenberg* ³⁰⁾ versuchte mehrfach in anderer Weise, dem Problem beizukommen, indem er eine Mikrobestimmung unter Wasserdampfdestillation und Chromsäureverbrennung des Glycerins vorschlug. Später ³¹⁾ wurde eine Abtrennung des Glycerins von den Zuckerarten in der Weise vorgenommen, dass diese mit Hilfe von Bariumhydroxyd gefällt und das Glycerin mit viel Aceton extrahiert wurde. Beide Methoden können nicht als voll befriedigend angesehen werden.
- d) Günstiger im Sinn einer Trennung von Glycerin und Zucker liegen die Verhältnisse beim Jodidverfahren ²⁸⁾, bei dem das Glycerin mit Jodwasserstoffsäure in Isopropyljodid übergeführt, dieses abdestilliert, mit Silbernitratlösung zersetzt und das entstandene Silberjodid gewogen, bzw. das Isopropyljodid mit Brom zum Jodat oxydiert und dieses titriert wird. Die Methode ist umständlich, da die Zersetzung bei Süsswein über 4 Stunden dauert, wobei eine ständige Beaufsichtigung der Apparatur erforderlich ist. Nach *Forster* ⁴⁰⁾ gibt sie auch für reines Glycerin keine ganz befriedigenden Werte. Sie erfordert eine spezielle Apparatur.
- e) *Thaler* und *Roos* ³³⁾ haben, auf den Arbeiten der französischen Autoren *Malaprade*, *Fleury* und *Fatome* ³⁹⁾ basierend, die Oxydation mit Perjodsäure zur Glycerinbestimmung herangezogen. Die Methode scheint recht exakte Werte zu geben, auch bei Anwesenheit grösserer Mengen Zucker (150 g Invertzucker/Liter). Auch hier muss eine Trennung von den Zuckerarten soweit als möglich erfolgen (Verwendung von Pb-acetat, Bariumhydroxyd und Aceton). Der Arbeitsaufwand ist ungefähr derselbe wie beim Kalkverfahren. Das Eindampfen der wässrigen Acetonlösung auf dem Wasserbad muss langsam unter Vermeidung des Siedens erfolgen wegen der Flüchtigkeit des Glycerins mit Wasser bzw. Lösungsmitteldämpfen. Das 2,3-Butylenglykol lässt sich nicht abtrennen und reagiert mit der Perjodsäure. Es muss im Bedarfsfall für sich allein bestimmt und vom Glycerin abgerechnet werden. Der günstige Erfassungsbereich der Methode liegt bei einigen mg Glycerin.

Es stellte sich nun die Frage, ob nicht auch chromatographische Methoden sich vorteilhaft auf das Problem der Glycerinbestimmung anwenden liessen und so die Schwierigkeiten infolge der unvollständigen Abtrennung von Begleitstoffen auf einfache Weise gelöst werden konnten. Es schien aussichtsreich, dass papierchromatographisch eine einfache und rasche Bestimmungsmethode ausgearbeitet werden könne, die besonders auch für Serienuntersuchungen geeignet wäre. Das Glycerin ist schwerflüchtig genug, um sich papierchromatographisch handhaben zu lassen. In Bezug auf die Genauigkeit konnte dabei nicht dasselbe erwartet werden, wie von einer rein analytisch-chemischen Methode.

In Teil II/C/3 wurde gezeigt, dass Glycerin noch in ausserordentlich kleinen Mengen (5—80 γ) mit ammoniakalischem Silbernitrat auf dem Papier nachgewiesen bzw. photometrisch bestimmt werden kann. In Bezug auf die Abtrennung der Begleitstoffe ergaben schon die ersten Versuche, dass hier günstige Bedingungen vorliegen. Wie die Tab. 15 zeigt, ist bei dem verwendeten Lösungsmittel (Tab. 4) der Rf-Wert von Glycerin genügend verschieden von den hauptsächlich im Wein vorkommenden Begleitstoffen, um eine einwandfreie Trennung zu sichern.

Tabelle 15

| Substanz | Rf-Wert |
|-------------------|----------------|
| Glycerin | 0,47 |
| Glukose | 0,19 |
| Fruktose | 0,23 |
| Saccharose | 0,12 |
| Sorbit | 0,18 |
| Mannit | 0,19 |
| 2,3-Butylenglykol | nicht sichtbar |
| Oxymethylfurfurol | nicht sichtbar |

Die Reaktion von Glycerin mit ammoniakalischem Silbernitrat dauert bis zur maximalen Farbentwicklung etwas länger als bei den direkt reduzierenden Zuckerarten (Tab. 4).

2. Ausführung der Bestimmung

Bei Glyceringehalten bis herab zu etwa 5 γ /2 μ l, entsprechend 2,5 g/l, kann die Bestimmung in 2 μ l ohne Konzentrierung erfolgen, andernfalls muss man vorsichtig einengen. Ein Sieden der Flüssigkeit ist zu vermeiden. Am besten legt man einen Karton unter das Becherglas auf dem Wasserbad. Eine Anreicherung ist auch direkt auf dem Papier möglich, indem man mehrmals auf die gleiche Stelle pipettiert und jeweils eintrocknen lässt.

Neben den Alkoholen treten regelmässig Säuren in Traubensäften und Weinen auf. Der Wein bzw. die Mistella muss mit einem Anionenaustauscher von der Hauptmenge der Säuren befreit werden, da dieselben sonst beim Sichtbarmachen mit der Silbernitratlösung stark stören (weisse Flecken oder Streifen). Infolge der Acidität wird die alkalische Reaktion aufgehoben, so dass die Reduktion des Silbernitrats unterbleibt. Schon früher haben wir diese Erscheinung bei der Zitronensäure beobachtet³⁾. Als Anionenaustauscher verwenden wir Wofatit M, der über Nacht in Wasser gequollen, dann 30 Minuten mit 7,5 %iger Sodalösung aktiviert (Rührer) und dann bis zur neutralen Reaktion mit destilliertem Wasser ausgewaschen wird.

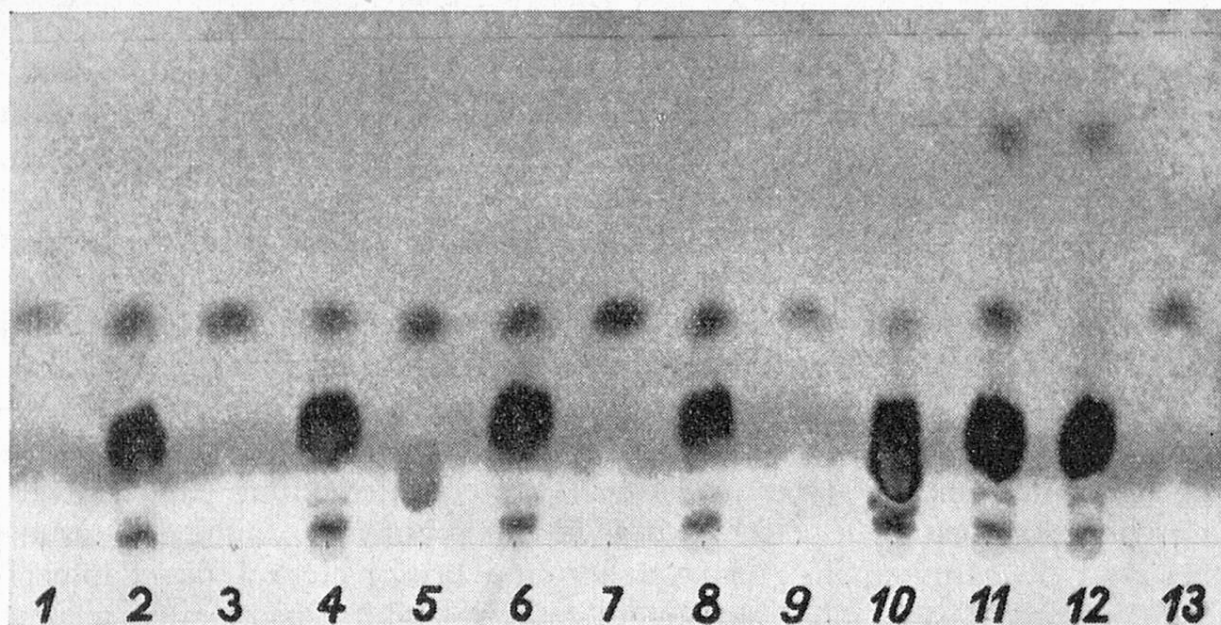


Abb. 3

Glycerinbestimmung in Süsswein
Sichtbarmachen mit Sprühmethode

Nr. 1, 3, 5, 7, 9 und 13: Testproben Nr. 2, 4, 6, 8: verschiedene Weine
Nr. 10, 11, 12: Traubensaftkonzentrate

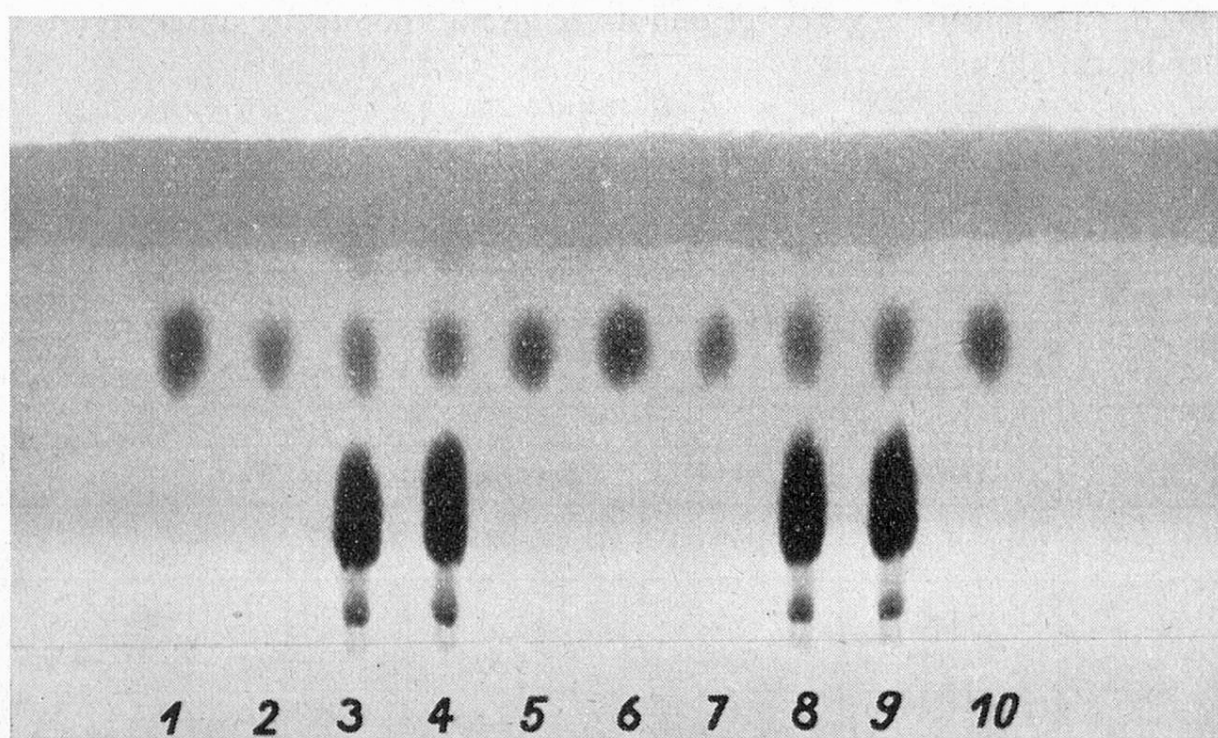


Abb. 4

Glycerinbestimmung in Süsswein
Silbernitrat in Entwicklungslösung aufgelöst

| | | | | | | | |
|-----|----|---|----|----|---|----|-----------------|
| Nr. | 1 | 2 | 5 | 6 | 7 | 10 | : Testproben |
| | 20 | 5 | 10 | 20 | 5 | 10 | γ Glycerin/2 μl |

Nr. 3, 4, 8, 9: Weinproben

Zuerst kontrolliert man das pH des Weines. Liegt der Wert unter 4,2, so muss die Entsäuerung vorgenommen werden. Dazu werden etwa 10 cm³ des Weines in einem Fläschchen mit Glasstopfen mit dem auf Filterpapier vom anhaftenden Wasser befreiten Wofatit versetzt. Dieser soll nicht mehr als $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{4}$ des Flüssigkeitsvolumens ausmachen. Man schüttelt etwa 15 Minuten, unter gelegentlichem Stehenlassen. Der pH-Wert soll dann 4,2 oder darüber betragen. Liegt er darunter, so muss die Behandlung mit Wofatit wiederholt werden. Die benötigte Menge Wofatit ist verschieden, je nach dem Gehalt an Säuren.

Nun bringt man von den Weinproben mit einer Kapillarpipette je 2 μ l auf das Papier, bzw. diese Menge mehrmals auf die gleiche Stelle, daneben die Testlösungen mit bekanntem Glycingehalt. Nach der Entwicklung (Silbernitrat in der Entwicklungsflüssigkeit gelöst, Tab. 4) lässt man zur Entfernung des Lösungsmittels etwa 30 Minuten im Abzug stehen und bringt hierauf das Papier für 1 Stunde in einen Kasten mit Ammoniakdämpfen. Durch Einstellen einer Schale mit konzentrierter NH₃-Lösung wird der Kasten mit Ammoniakdämpfen gefüllt. Der Behälter wurde in einer früheren Arbeit beschrieben ¹⁾. Anschliessend wird etwa 15 Minuten im Trockenschrank bei 100° erhitzt, worauf die schwarzen Glycerinflecken auf gleichmässig hellbraunem Untergrund hervortreten. Die Intensität der Flecken verstärkt sich noch erheblich, wenn die Papiere 12 Stunden im Dunkeln aufbewahrt werden. Nun wird die photographische Aufnahme gemacht, das Diapositiv angefertigt und dasselbe im Photometer ausgewertet, wie früher beschrieben.

3. Resultate

a) Zusatz von Glycerin zu Süsswein (Madeira)

Tabelle 16

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|-------------------|--------|----------|---------------|------------------------------|
| Serie Nr. | Glycerin gefunden | | | | Gefunden % der Theorie |
| | $\gamma/2 \mu^1$ | | g/l | | |
| | Einzel | Mittel | Gefunden | Theoret. Wert | |
| Glyceringehalt vor dem Zusatz | | | | | |
| 1 | 11,8 | 12,8 | 6,4 | — | — |
| 2 | 12,0 | | | | |
| 3 | 14,5 | | | | |
| Zusatz von 10 γ Glycerin / 2 μ^1 = 5 g/l | | | | | |
| 1 | 22,6 | 25,3 | 12,6 | 11,4 | 110,0 |
| 2 | 23,6 | | | | |
| 3 | 29,7 | | | | |

Der gefundene Wert von 6,4 g Glycerin/Liter für Madeira-Süsswein stimmt mit den Angaben der Literatur gut überein. König⁵³⁾ gibt für diese Sorte Süssweine einen Mittelwert von 6,7 g/l an.

Die zum Wein zugesetzte Glycerinmenge wird mit einem Fehler von +10 % wiedergefunden. Da der Wein mit Wofatit behandelt wurde, ergibt es sich, dass diese Behandlung offenbar keine Verluste mit sich brachte.

b) Zusatz von Glycerin zu einem Traubensaftkonzentrat
Invertzuckergehalt: 193 g/l

Tabelle 17

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|------------------------|--------|----------|---------------|------------------------------|
| Serie Nr. | Glycerin gefunden | | | | Gefunden % der Theorie |
| | $\gamma/2 \mu\text{l}$ | | g/l | | |
| | Einzel | Mittel | Gefunden | Theoret. Wert | |
| Glyceringehalt vor den Zusätzen | | | | | |
| 1 | 2,1 2,4 | 2,25 | 1,1 | — | — |
| 2 | 2,3 2,3 | 2,3 | | | |
| Zusatz von 6 γ Glycerin / 2 μl = 3 g/l | | | | | |
| 1 | 8,8 9,5 | 9,15 | 4,5 | 4,1 | 110 % |
| 2 | 8,7 9,1 | 8,9 | | | |
| Zusatz von 12 γ Glycerin / 2 μl = 6 g/l | | | | | |
| 1 | 13,0 13,9 | 13,45 | 6,8 | 7,1 | 96 % |
| 2 | 14,6 12,9 | 13,75 | | | |
| Zusatz von 18 γ Glycerin / 2 μl = 9 g/l | | | | | |
| 1 | 17,75 16,0 | 16,9 | 9,6 | 10,1 | 95 % |
| 2 | 20,5 22,5 | 21,5 | | | |

Das für die Versuche in Tab. 17 verwendete Konzentrat wurde durch Einengen von frisch gepresstem Traubensaft im Vakuum gewonnen. Es wurde dann durch Zusatz von Wasser auf einen Extraktgehalt von ca. 200 g/l eingestellt.

c) Glycerinbestimmung bei verschiedenem Vergärungsgrad

Tabelle 18

Die in Tab. 18 aufgeführten Versuche wurden nach dreifacher Konzentration auf dem Papier ausgeführt.

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|-----|-----------------------|--|----------------------------|--------|-----------------|------|---|--|---|
| Nr. | Traubensaft | | Glycerin gefunden | | | | Zucker- gehalt g/l Invert- zucker | Vol % eigener Gä- rungs- alkohol | 2,3-Butylen- glykol- Gehalt mg/l |
| | Be- zeich- nung | Herstellung | $\gamma/2\mu l$ | | $\gamma/1\mu l$ | g/l | | | |
| | | | Einzel | Mittel | | | | | |
| 1 | frisch | frisch gepresst + Alkoholzusatz (Mistella) | kein Glycerin feststellbar | | | | | | |
| 2 | IIIa | dito, dann 4 Jahre gelagert | 2,5 2,5 2,5 | 2,5 | 1,25 | 0,41 | 113,5 | 0,05 | 5 |
| 3 | IIIb | Nach Vergärung bis 1,54 Vol.% Alkohol stumm gemacht, dann 4 Jahre gelagert | 7,8 6,4 5,9 | 6,7 | 3,35 | 1,1 | 89,4 | 1,54 | 17 |
| 4 | III d | Nach Vergärung bis 6,3 Vol.% Alkohol stumm gemacht, dann 4 Jahre gelagert | 16,9 16,4 14,9 | 16,1 | 8,9 | 2,7 | 16,1 | 6,3 | 138 |
| 5 | IIIe | Nach Vergärung bis 8,14 Vol.% Alkohol stumm gemacht, dann 4 Jahre gelagert | 19,9 19,9 21,4 | 20,4 | 10,2 | 3,4 | 0,8 | 8,14 | 152 |

Die in Tab. 18 wiedergegebenen abgestuften Glycerinmengen entsprechen gut den verschiedenen Vergärungsgraden, wie sie durch den steigenden Alkohol- und 2,3-Butylenglykolgehalt und die sinkende Zuckermenge zum Ausdruck kommen. In ganz frisch gepresstem Traubensaft, der durch Alkohol stumm gemacht wurde, fanden wir keine Spur Glycerin, d.h. die Abtrennung aller störenden Bestandteile, speziell des Zuckers, ist eine vollständige, und es wird durch keinen andern Körper Glycerin vorgetäuscht. Mistella III a war in gleicher Weise wie Nr. 1

gewonnen, jedoch 4 Jahre gelagert worden, und enthält eine geringe Menge Glycerin, welche sich im Verlauf dieser Zeit offenbar trotz Alkoholzusatz gebildet hat.

Der pH-Wert des frisch hergestellten Traubensaftes nach Alkoholzusatz betrug 3,72, nach zweimaliger Wofatitbehandlung 4,22. Bei den Proben III a und III e war der pH-Wert vor der Entsäuerung noch tiefer, ca. 2,9, so dass eine viermalige Wofatitbehandlung sich als notwendig erwies.

Tabelle 19
Vergleich von Glycerin, Zucker- und 2,3-Butylenglykolumenge bei unbekanntem Vergärungsgrad von Süssweinen

| Nr. | Glycerin g/l | Butylenglykol mg/l | Zucker g/l |
|-----|-----------------|-----------------------|---------------|
| 1 | 3,2 | 132 | 86,8 |
| 2 | 2,9 | 99 | 83,7 |
| 3 | 3,2 | 113 | 85,2 |
| 4 | 2,9 | 118 | 86,2 |
| 5 | 0,65 | 34 | 207,1 |

Obwohl es sich bei diesen Proben um Produkte aus dem freien Verkehr handelte und nichts Genaueres über den Vergärungsgrad bekannt war, lassen doch die noch vorhandenen Zuckermengen bei den Proben 1—5 gewisse Schlüsse auf die Menge des vergorenen Zuckers zu. Die Zahlen stehen in recht gutem Einklang mit denjenigen der Tab. 18.

B. Oxymethylfurfurolbestimmung in Traubensaftkonzentraten und Süssweinen

1. Problemstellung

Oxymethylfurfurol, als Anhydrid der Fruktose, entsteht in reichlicher Menge bei der Inversion von Saccharose mit starker Säure. Seine Anwesenheit ist daher ein typisches Kennzeichen von Invertzucker und damit von Kunsthonig³⁴⁾. Ferner bildet es sich bei der thermischen Zersetzung der Zuckerarten, namentlich aus Fruktose.

Süsswein wird bekanntlich in bestimmten Produktionsgebieten (Spanien, Italien) unter Zusatz von eingekochtem Traubensaft (Arrope) hergestellt. Bei dieser Konzentrierung bildet sich, unter der Wirkung der vorhandenen organischen Säuren, aus dem Zucker eine grössere oder geringere Menge Oxymethylfurfurol. Massgebend hierfür ist vor allem die bei der Konzentration erreichte Temperatur, die ihrerseits vom Eindickungsgrad und den Druckverhältnissen

abhängig ist. Im Vakuum sorgfältig eingedickter Saft bleibt dementsprechend praktisch frei von Oxymethylfurfurol, während im Autoklav bei gleichem Säuregrad reichliche Mengen dieses Aldehydes entstehen. Bei primitiven Anlagen mit direkter Beheizung, in welchen starke Überhitzungen auftreten, ist ebenfalls eine starke Anhydrierung der Fruktose feststellbar. Da in einzelnen Weinbaugebieten kein Konzentrat, sondern nur Traubensaft zum Aufsüssen der Weine gebraucht wird (z.B. bei Porto) und hier kein Oxymethylfurfurol auftritt, kann der Gehalt an diesem letzteren Anhaltspunkte über die Herkunft des Weines liefern (*Kruisheer*³⁵). Von diesem Autor wurde festgestellt, dass ein merklicher Gehalt an dieser Verbindung nicht von einer Pasteurisierung ($\frac{3}{4}$ Stunden bei 75° im Wasserbad) oder einer langjährigen Lagerung des Weines herrühren kann.

Zur quantitativen Bestimmung des Oxymethylfurfurols, speziell in Süsswein, ist von *Kruisheer*, *Vorstman* und *Kniphorst*³⁵) sowie auch von *v. Fellenberg*³⁶) die Fällung als Phloroglucid vorgeschlagen worden. Dabei haben aber die zahlreichen andern im Wein vorhandenen Stoffe (roter Weinfarbstoff, Aldehyde wie Acetaldehyd usw.) einen grossen Einfluss auf das Resultat der Bestimmung, da sie ebenfalls mit Phloroglucin unlösliche Fällungen bilden können. Die Hauptschwierigkeit liegt also darin, einen Weg aufzufinden, diese andern Stoffe, welche mit Phloroglucin einen unlöslichen Niederschlag bilden, aus dem Wein zu entfernen und dabei das Oxymethylfurfurol möglichst ohne Verlust zu erhalten.

Kruisheer und Mitarbeiter (l. c.) führen eine Vorreinigung mittels Ätherperforation durch. Die ätherlöslichen flüchtigen Aldehyde werden nach dem Abdestillieren der Hauptmenge des Äthers entfernt, indem man über den Rückstand bei 100° einen Strom von Kohlendioxyd führt. Das letztere muss vollständig sauerstofffrei sein, weil das Oxymethylfurfurol bei höherer Temperatur sehr leicht oxydiert wird. Verluste infolge Flüchtigkeit sind nicht zu befürchten.

Unterlässt man diese etwas umständliche Vorbehandlung (*von Fellenberg*³⁶)), so werden nach *Kruisheer* (l. c.) in allen Süssweinen, auch in solchen, welche mit Sicherheit keinen eingekochten Most oder Caramel enthalten, dennoch Fällungen mit Phloroglucin erhalten, was grössere Mengen von Oxymethylfurfurol vor-täuscht.

Die quantitative Bestimmung nach *Kruisheer* und Mitarbeiter mit Ätherperforation (2 Tage), Trocknen des Perforates mit Natriumsulfat (über Nacht), Vertreiben der Flüssigkeit auf dem Wasserbad, Durchleiten eines Kohlensäurestromes, Fällung mit Phloroglucin-Salzsäure (Stehen über Nacht), Auswaschen und Trocknen der Fällung ist ziemlich langwierig. Die Autoren schlagen eine einfache orientierende Vorprobe vor, mit der man feststellen kann, ob sich die quantitative Bestimmung jeweils lohnt.

Bei Gelegenheit der Untersuchung verschiedener Süssweine und Traubensaftkonzentrate konnten wir feststellen, dass das Oxymethylfurfurol mit Hilfe der Papierchromatographie sehr gut aufgefunden werden kann. Schon früher war es gelungen, diese Verbindung in Essigessenz und Zitronenessig nachzuweisen³). Bei dem verwendeten Lösungsmittel (Butanol-Äthanol-Wasser) besitzt die Ver-

bindung einen hohen Rf-Wert, was die Abtrennung von den andern in Frage kommenden Bestandteilen, die mit dem Farbreagens sichtbar werden, sehr begünstigt.

Tabelle 20

| Substanz | Rf-Wert |
|-------------------|----------------|
| Oxymethylfurfurol | 0,82 |
| Fruktose | 0,26 |
| Saccharose | 0,16 |
| Weinfarbstoff | 0 |
| Glukose | nicht sichtbar |
| Sorbit | nicht sichtbar |
| Mannit | nicht sichtbar |

Die Farbreaktion mit Naphthoresorcin/Trichloressigsäure ist sehr empfindlich. Es lassen sich noch 2,5 γ /4 μ l mit der beschriebenen photometrischen Methode quantitativ erfassen. Eine Störung durch flüchtige Aldehyde wie Acetaldehyd kommt bei dieser Methode nicht in Frage, da flüchtige Stoffe verdunsten. Der rote Weinfarbstoff (Oenocyanin) wird bei der Entwicklung ebenfalls einwandfrei abgetrennt.

2. Ausführung der Bestimmung

Zur Herstellung der Testlösungen kann man sich reines Oxymethylfurfurol nach der unten genau beschriebenen Arbeitsweise von *Kiermayer* ³⁷⁾, welche wir ein wenig modifiziert haben, darstellen.

Von Fellenberg ³⁶⁾ verwandte zur Ausarbeitung seiner Methode eine nach der Vorschrift von *Fiehe* ⁵²⁾ wie folgt behandelte Rohrzuckerlösung: 0,25 g Rohrzucker werden in einem 50-cm³-Messkolben in 25 cm³ Wasser gelöst, mit 10 cm³ 5n-HCl versetzt, in einem siedenden Wasserbad genau 1/2 Stunde erhitzt, abgekühlt und mit Wasser zur Marke aufgefüllt. — Nach *Fiehe* berechnet sich der Gehalt der zerstörten Zuckerlösung an Oxymethylfurfurol wie folgt: Aus 100 Teilen Saccharose entstehen 52,6 Teile Fruktose, aus 100 Teilen Fruktose 24,6 Teile Oxymethylfurfurol. Somit bilden sich aus der Saccharose 12,94 % Oxymethylfurfurol. Daraus ergibt sich weiter, dass jeder cm³ der zerstörten Zuckerlösung 0,0647 g Oxymethylfurfurol enthält, daneben noch Zersetzungsprodukte wie Huminsäuren, Lävulinsäure, Ameisensäure usw. Für unsere Untersuchungen bot diese Schnellmethode nicht genügende Sicherheit.

Wir stellten uns daher reines Oxymethylfurfurol auf folgende Weise her:

150 g Saccharose und 1,5 g Oxalsäure werden in 500 cm³ Wasser gelöst, entsprechend einer 30%igen bzw. 0,3%igen Lösung. Diese wird im Autoklav während 2 3/4 Stunden bei 2,5 Atm. erhitzt. Nach dem Abkühlen neutralisiert man

mit Kalk und filtriert. Zum Filtrat setzt man 15 cm³ Bleiessig zu, lässt 1 Stunde stehen und filtriert. Das Filtrat wird nochmals mit der gleichen Menge Bleiessig versetzt und über Nacht stehen gelassen. Am andern Tag hebert man die überstehende klare Lösung ab, zentrifugiert den Rest und vereinigt die beiden Lösungen. Das Oxymethylfurfurol wird daraus mit Essigester ausgeschüttelt (5mal). Wegen Emulsionsbildung muss jeweils zentrifugiert werden. Der Essigester wird dann im Stickstoffstrom abdestilliert und aus dem Rückstand das Oxymethylfurfurol durch Destillation im Hochvakuum gewonnen. Der Siedepunkt war 114—116° C bei 1 mm Hg, in Übereinstimmung mit Angaben der Literatur³⁸⁾. Die Ausbeute betrug ca. 7 g. Beim Aufbewahren unter Stickstoff in zugeschmolzenen Röhrchen scheint die Verbindung unbeschränkt haltbar zu sein.

Die Ausführung der papierchromatographischen Bestimmung gestaltet sich bei Konzentraten und Süssweinen einfach. Eine Behandlung mit Ionenaustauschern ist unnötig. Die Empfindlichkeit der Farbreaktion gestattet die Bestimmung in der Regel ohne Konzentrierung. Bei Konzentraten muss sogar oft auf das 5—10fache verdünnt werden, damit die Bestimmung mit dem Photometer einwandfrei ausgeführt werden kann. Die Testlösungen wurden durch Auflösen von reinem Oxymethylfurfurol in Wasser + 10 % Isopropylalkohol (s. Teil II/C/1) hergestellt.

Nach der Entwicklung (Naphthoresorcin im Lösungsmittel gelöst) (Tab. 4) lässt man die Papiere ca. 30 Minuten im Abzug stehen und bringt sie hierauf in einen Kasten mit Salzsäuredämpfen (Einstellung einer Schale mit konz. Salzsäure). Nach 5—10 Minuten erscheinen die intensiv roten Flecken des Oxymethylfurfurols auf weißem Untergrund, eine Behandlung bei erhöhter Temperatur ist unnötig. Besprüht man mit Naphthoresorcin, gelöst in Trichloressigsäure (spezifisches Reagens auf Ketosen), dann werden beim Erwärmen auf 80—90° neben Oxymethylfurfurol auch Fruktose und Saccharose sichtbar.

Die photographische Aufnahme muss möglichst rasch nach dem Sichtbarmachen erfolgen, weil die Farbe in kurzer Zeit (30 Minuten) anfängt zu verblassen.

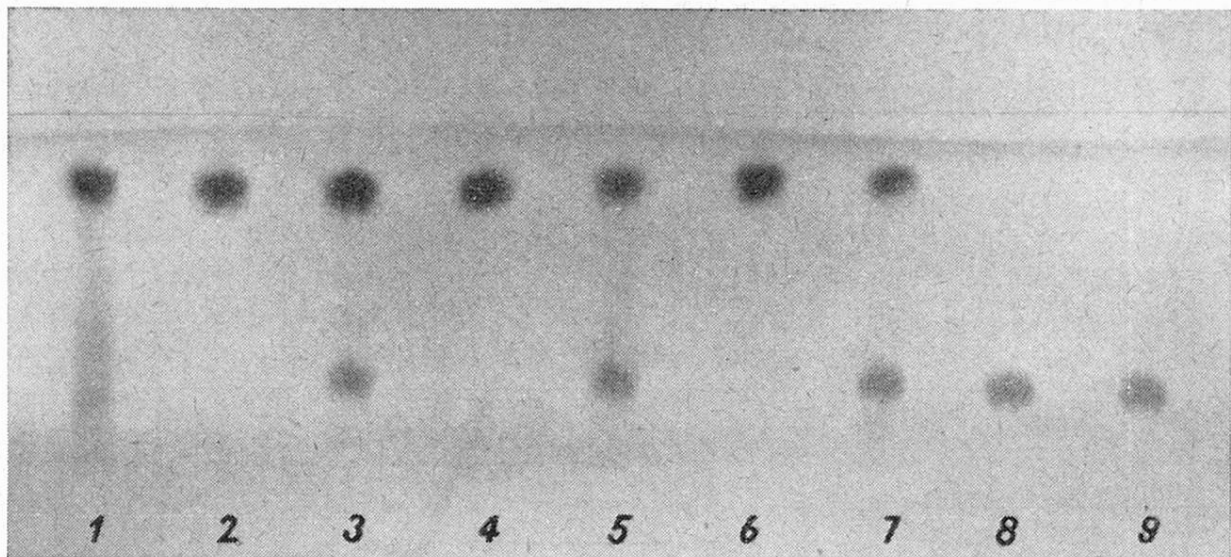


Abb. 5

Oxymethylfurfurolbestimmung in Traubensaft und Konzentrat

Nr. 2, 4, 6: Testproben mit 12 γ , 10 γ ,
12 γ Oxymethylfurfurol/5 μ l

Nr. 1 Konzentrat nach Erhitzen über freier Flamme

Nr. 3 Traubensaft nach Autoklavbehandlung

Nr. 5 Konzentrat Nr. 6487 (Handel)

Nr. 7 Konzentrat Nr. 6488 (Handel)

Nr. 8 Vakuumkonzentrat

Nr. 9 Frischer Traubensaft

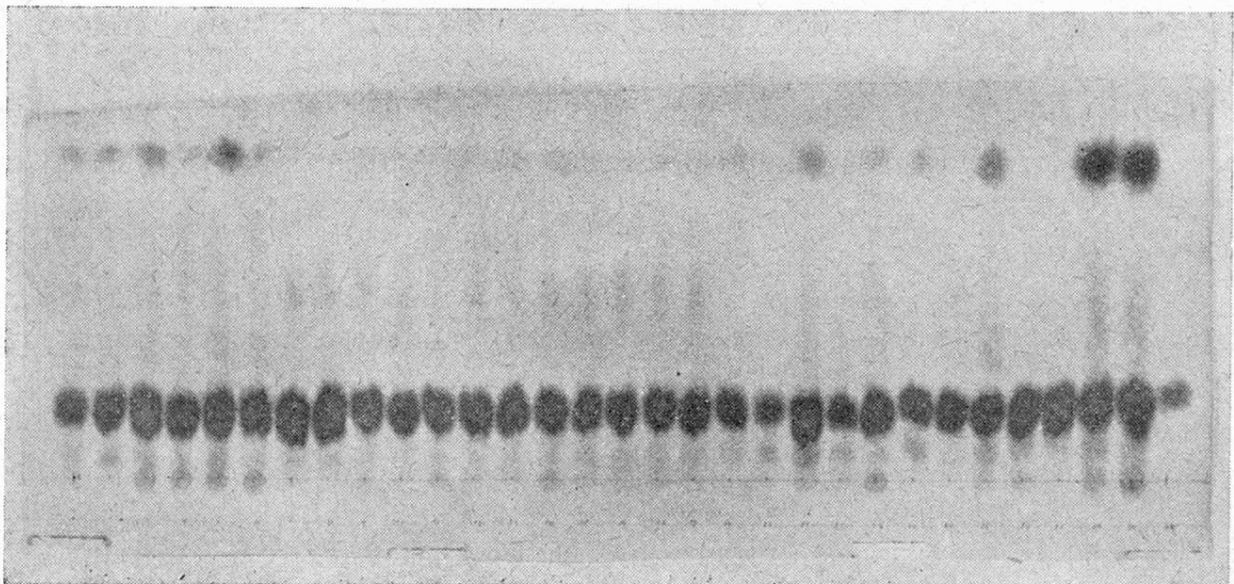


Abb. 6

Oxymethylfurfurolbestimmung in einer grösseren Serie von Süssweinen

Man sieht qualitativ die grossen Unterschiede von Probe zu Probe.

3. Resultate

a) Zusatzversuche von Oxymethylfurfurol zu Traubensaft (Nr. 30—27)
nach Autoklavbehandlung
Verdünnung 1 : 10

Tabelle 21

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|---|----------------------------|--------|------------------|----------|---------------|--|
| Serie Nr. | Oxymethylfurfurol gefunden | | | | | Zugesetzte Menge gefunden o/o |
| | $\gamma/2 \mu l$ | | $\gamma/1 \mu l$ | g/l | | |
| | Einzel | Mittel | | Gefunden | Theoret. Wert | |
| Oxymethylfurfurolgehalt vor dem Zusatz | | | | | | |
| 1 2 | 2,1 2,9 | 2,5 | 1,25 | 12,5 | — | — |
| Zusatz von 5 γ Oxymethylfurfurol / 2 $\mu l = 25$ g/l | | | | | | |
| 1 2 | 8,1 7,3 | 7,7 | 3,85 | 38,5 | 37,5 | 102,7 |
| Zusatz von 10 γ Oxymethylfurfurol / 2 $\mu l = 50$ g/l | | | | | | |
| 1 2 3 | 11,7 12,1 13,7 | 12,5 | 6,25 | 62,5 | 62,5 | 100,0 |

Der Traubensaft war wie folgt behandelt worden: 1 Liter frischer Traubensaft wurde in einen Stehkolben eingewogen und dann 4 Stunden bei 2,5 Atm. und 138° im Autoklav erhitzt. Nachher wurde zurückgewogen und der Verlust an Wasser ersetzt.

Zur Kontrolle der Methode wurden Mengen von 5 und 10 γ Oxymethylfurfurol/2 μl zugesetzt. Diese wurden in befriedigender Weise wiedergefunden (Kolonne 7).

b) Oxymethylfurfurolbestimmung in Konzentraten und Traubensaft

Tabelle 22

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|-----|--------------------------------------|--|----------------------------------|------------|--------|------------------|------|
| Nr. | Material zur Analyse | | Menge Oxymethylfurfurol gefunden | | | | |
| | Art | Behandlung | $\gamma/2 \mu^1$ | | | $\gamma/1 \mu^1$ | g/l |
| | | | 1. Serie | 2. Serie | Mittel | | |
| 1 | Frischer Traubensaft | keine | kein Oxymethylfurfurol | | | | |
| 2 | Vakuumkonzentrat | keine | kein Oxymethylfurfurol | | | | |
| 3 | Vakuumkonzentrat | Über freier Flamme 1 Std. bei 140 ⁰ erhitzt, 5mal verdünnt zur Bestimmung | 3,8 4,4 | 4,6 4,7 | 4,4 | 2,2 | 11,0 |
| 4 | Frischer Traubensaft | Autoklavbehandlung, 4 Std., 2,5 Atm., 138 ⁰ , 10mal verdünnt zur Bestimmung | 2,1 2,9 | — | 2,5 | 1,25 | 12,5 |
| 5 | Konzentrat Nr. 6487, Handelspräparat | dunkelbraun, 5mal verdünnt zur Bestimmung | 3,15 3,1 | 4,4 4,5 | 3,8 | 1,9 | 9,5 |
| 6 | Konzentrat Nr. 6488, Handelspräparat | dunkelbraun, 5mal verdünnt zur Bestimmung | 1,1 0,9 | 1,1 1,3 | 1,1 | 0,55 | 2,7 |

Der höchste Oxymethylfurfurolgehalt ergibt sich bei der Autoklavbehandlung des Traubensaftes unter der Mitwirkung der vorhandenen schwachen Säuren (vgl. dazu die oben beschriebene Herstellung von reinem Oxymethylfurfurol durch Autoklavbehandlung von Saccharose unter Zusatz von Oxalsäure). Auch bei der Erhitzung eines zunächst oxymethylfurfuolfreien Konzentrates über freier Flamme entstehen beträchtliche Mengen des Anhydrides. Die Konzentrate des Handels, bei denen man leider nicht genau wusste, wie sie hergestellt worden waren, enthielten die Verbindung in unterschiedlicher Menge.

Die Bestimmung in Traubensaftkonzentrat, welches schonend durch Vakuum-eindampfen gewonnen worden war, verlief absolut negativ, ebenso diejenige in frisch hergestelltem Traubensaft. Eine Vortäuschung der Verbindung, wie sie nach der Phloroglucidmethode unter Umständen eintreten kann, kommt also hier nicht in Frage.

In Bezug auf die Genauigkeit ergibt sich aus den Werten von Tab. 21 und 22 eine durchschnittliche Streuung der Einzelmessung von 10 %. Dieselbe ist etwas grösser als beim Glycerin. Trotzdem gelang das Wiederfinden zugesetzter Mengen erstaunlich gut, was zeigt, dass mehrere Messungen die Fehler weitgehend ausgleichen.

IV. Kritische Schlussbemerkungen

Der Versuch, papierchromatographisch getrennte Substanzen nach dem Sichtbarmachen zu photographieren, am Negativ oder noch besser am Diapositiv die relative Schwärzung auszumessen und damit die Substanz quantitativ zu erfassen, hat sich weitgehend als erfolgreich erwiesen. Sehr zahlreiche Substanzen dürften sich in dieser Weise in Mengen von einigen bis zu 100 γ mit einer für verschiedene Zwecke wohl genügenden Genauigkeit bestimmen lassen. Bei der praktischen Durchführung sind verschiedene Umstände zu beachten. Wir haben in der vorstehenden Arbeit versucht, einerseits die untere Grenze der Erfassbarkeit, andererseits die obere zulässige Grenze, über welche hinaus die Schwärzungen nicht mehr proportional der Menge der eingesetzten Substanz zunehmen, für einige Körper zu bestimmen. Die aufgebrachte Flüssigkeitsmenge, die Art des Papiers und anderes mehr ist von Einfluss auf die Zuverlässigkeit der Ergebnisse. Dennoch bleibt die Streuung der Einzelwerte in den von uns genauer untersuchten Fällen (Glycerin, Oxymethylfurfurol) um 5—10 %. Es wird dies nicht für jeden, aber doch für manchen Zweck genügend sein.

Für die Messung wird ein gutes Photometer benötigt, eine Voraussetzung, die auch nicht überall erfüllt sein kann. Immerhin ist zu sagen, dass die ganze Bestimmung, mit Ausnahme der photometrischen Ausmessung, sehr einfache und selbst für ein kleines Laboratorium erschwingliche Einrichtungen erfordert. Da in den grösseren Städten wohl meistens ein geeignetes Photometer zur Verfügung stehen wird, lassen sich die Messungen dennoch durchführen, indem es keine Schwierigkeiten bereitet, die photographisch fixierten Ergebnisse zu dislozieren. Eine genauere Bestimmung, die bei mehrfacher Wiederholung wohl bis zu einer Abweichung vom «wahren» Wert von 2—3 % führen dürfte, erfordert demgegenüber unter allen Umständen einen beträchtlichen Zeitaufwand. Messungen dieser Art wird man also nur in Fällen ausführen, in welchem andere Methoden versagen oder noch zeitraubender sind. Für Glycerinbestimmungen in Süsswein, sowie für Oxymethylfurfurolbestimmungen allgemein, dürfte diese Bedingung erfüllt sein. Einmal eingespielt, gestattet es die chromatographische Methode, mindestens bei mehreren Objekten nebeneinander, ein Resultat mit einem Arbeitsaufwand von 1 Tag zu erhalten.

Sehr vorteilhaft gestaltet sich das Verfahren bei grossen Serien. Der Arbeitsaufwand ist nicht wesentlich grösser, wenn statt einer oder zwei Proben deren 15 oder 20 auf ein Blatt appliziert werden. Dennoch kann ein recht guter Überblick über einzelne Komponenten erhalten werden. Proben, die Werte ergeben,

welche sehr stark von einer gegebenen Grenzzahl abweichen, können ohne weiteres als eindeutig in positivem oder negativem Sinne gelten. Zeigen die Proben Werte nahe bei einer Minimal- oder Maximalzahl, so greift man sie heraus und untersucht sie nochmals in genauer Art, sei es chromatographisch, sei es mit einer anderen Methode. Bei solchen Serienuntersuchungen wird man sicher viel schneller zum Ziele gelangen, als mit den meisten anderen Methoden. Dabei ist als grosser Vorteil immer wieder die fast absolute Spezifität des Nachweises zu nennen. Bei photographischer Aufnahme dient diese letztere als wertvolles, fast unzerstörbares Dokument.

Wir hoffen, in nächster Zeit noch auf zahlreiche andere Möglichkeiten der Anwendung der quantitativen Papierchromatographie hinweisen zu können.

Zusammenfassung

Es wird der Versuch unternommen, Papierchromatogramme verschiedener Substanzen photographisch festzuhalten, in Kleinbild-Diapositive überzuführen und diese letztern am Spektrallinien-Photometer auszumessen. Die Bedingungen, unter welchen eine quantitative Erfassung der Substanzen gelingt, werden eingehend geprüft. Bei Mengen von ca. 1,5—100 γ gelingt es, Alanin, Glycerin, Oxymethylfurfurol, Colamin und Cholin mit einer Genauigkeit von ± 5 —10 % zu bestimmen. Die Methode scheint recht allgemein anwendbar zu sein und insbesondere bei Serienuntersuchungen Vorteile zu bieten.

Résumé

Les chromatogrammes sur papier de diverses substances ont été photographiés. A partir des photos on a préparé des diapositifs de petit format et on a mesuré, au moyen d'un spectro-photomètre, l'intensité des images ainsi obtenues.

On a étudié et précisé les conditions de travail à observer pour doser quantitativement les substances examinées. C'est ainsi qu'on a pu doser, avec une exactitude de ± 5 —10 %, l'alanine, la glycérine, l'oxyméthylfurfurol, la colamine et la choline, en quantités allant d'environ 1,5 à 100 γ .

Cette méthode paraît devoir être d'application très générale et semble particulièrement avantageuse pour des essais en série.

Summary

Paper chromatograms of various substances have been photographed. Small size diapositives of the photographs have been prepared and the intensity of the images so obtained has been measured with a spectro-photometer. By use of this procedure a method for the quantitative determination of various substances has been developed. It was possible to determine amounts of about 1.5 to 100 γ of Alanine, Glycerine, Oxymethylfurfurol, Colamine and Choline with a ± 5 —10 % accuracy.

This method seems to be of a general application and, particularly, to offer advantages for series determinations.

Literatur

- ¹⁾ H. Sulser: diese Mitt. **42**, 376 (1951).
- ²⁾ H. Sulser, O. Högl: diese Mitt. **42**, 395 (1951).
- ³⁾ H. Sulser, O. Högl: diese Mitt. **42**, 403 (1951).

- 4) *Th. Wieland*: Angew. Chem. **60**, 250, 313 (1948); Die Naturwissenschaften **35**, 29 (1948).
- 5) *Th. Wieland, L. Wirth*: Angew. Chem. **63**, 171 (1951).
- 6) *F. Cramer*: ebenda **62**, 73 (1950).
- 7) *C. E. Dent*: Biochem. J. **41**, 240 (1947).
- 8) *R. Consden, A. H. Gordon, H. J. Martin*: Angew. Chemie. **61**, 367 (1949).
- 9) *H. Flood, E. Hirst, J. Jones*: Nature **160**, 86 (1947).
- 10) *K. Täufel, H. Jwainsky und R. Reiss*: Z. analyt. Chem. **134**, 335 (1951).
- 11) *R. B. Fisher, D. B. Parsons, G. A. Morrison*: Nature **161**, 764 (1948).
- 12) *R. J. Block*: Science **108**, 608 (1948).
- 13) *R. J. Block*: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. **72**, 337 (1949).
- 14) *R. J. Block*: Analyt. Chem. **22**, 1327 (1950).
- 15) *E. F. McFarren, E. F. Brand und H. R. Rutkowsky*: Analyt. Chem. **23**, 1146 (1951).
- 16) *H. B. Bull, J. W. Hahn, U. H. Baptist*: J. Am. Chem. Soc. **71**, 550 (1949).
- 17) *R. B. Fisher, D. B. Parsons, G. A. Morrison*: Nature **164**, 183 (1949).
- 18) *R. C. Brimley*: ebenda **163**, 215 (1949).
- 19) Ref. in Z. analyt. Chem. **136**, 140 (1952).
- 20) *H. P. Kaufmann und J. Budwig*: Fette und Seifen **53**, 69 (1951).
- 21) *R. Williams, H. M. Kirby*: Science **107**, 481 (1948).
- 22) *M. A. Jermyn, F. A. Isherwood*: Biochem. J. **44**, 402 (1949).
- 23) *R. A. Boissonnas*: Helv. **33**, 1966 (1950).
- 24) *L. Hough*: Nature **165**, 400 (1950).
- 25) *E. Chargaff, C. Levine, Ch. Green*: J. Biol. Chem. **175**, 67 (1948).
- 26) *S. M. Partridge*: Biochem. J. **42**, 238 (1948).
- 27) *W. G. Forsyth*: Nature **161**, 239 (1948).
- 28) Handbuch der Lebensmittelchemie, Bd. **VII**, S. 307.
- 29) *J. Pritzker*: diese Mitt. **31**, 223 (1940).
- 30) *Th. von Fellenberg*: ebenda **22**, 231 (1931).
- 31) *Th. von Fellenberg*: ebenda **34**, 344 (1943).
- 32) Handbuch der Lebensmittelchemie, Bd. **VII**, S. 308.
- 33) *H. Thaler, W. Roos*: Z. analyt. Chem. **131**, 24 (1950).
- 34) Handbuch der Lebensmittelchemie, Bd. **V**, S. 340.
- 35) *C. J. Kruisheer, J. M. Vorstman, C. E. Kniphorst*: Z.U.L. **69** 571 (1935).
- 36) *Th. von Fellenberg*: diese Mitt. **25**, 249 (1934).
- 37) *J. Kiermayer*: Chem. Ztg. **19**, 1003 (1895).
- 38) *Beilstein*, 4. Aufl., Bd. **18**, S. 14.
- 39) *L. Malaprade, P. Fleury, M. Fatome*: Bull. Soc. chim. France [4] **43**, 683 (1928); J. Pharm. Chim. **21**, 247 (1935).
- 40) *L. Forster*: J. Biol. Chem. **20**, 403 (1915).
- 41) *F. Cramer*: Papierchromatographie, Verlag Chemie 1952, S. 41.
- 42) *R. Markham, J. D. Smith*: Biochem. J. **45**, 294 (1949).
- 43) *E. Work*: Biochim., Biophys. Acta **3**, 400 (1949).
- 44) *R. Consden, A. H. Gordon, H. J. Martin, R. L. Synge*: Biochem. J. **41**, 596 (1947).
- 45) *Dent*: Biochem. J. **41**, 240 (1947).
- 46) *O. Högl*: Z.U.L. **95**, 177 (1952).
- 47) *Ch. Gustafsson, J. Sundman, Lindh*: Paper and Timber (Finnland) **33**, 1 (1951).
- 48) *A. R. Patton*: J. Chem. Education **26** (1949).
- 49) *D. E. Nicholson*: Nature **163**, 954 (1949).

- ⁵⁰⁾ L. S. Fosdick, R. Q. Blackwell: Science **109**, 314 (1949).
- ⁵¹⁾ W. Grassmann, K. Hannig: Z. physiol. Chemie **290**, 1 (1952).
- ⁵²⁾ J. Fiehe: Z.U.L. **63**, 288 (1932).
- ⁵³⁾ J. König: Chemie der menschlichen Nahrungs- und Genussmittel (1903), 1. Band, S. 1324.
- ⁵⁴⁾ Schweiz. Lebensmittelbuch 4., rev. Aufl. (1937), S. 160.
- ⁵⁵⁾ W. A. Winsten, E. Eigen: Proc. exp. Biol. Med. **67**, 513 (1948).
- ⁵⁶⁾ R. R. Goodall, A. A. Levi: Nature **158**, 675 (1946).
- ⁵⁷⁾ R. G. Kluener: J. Bacteriol. **57**, 101 (1949).

Bücherbesprechung

R. Ulrich, Caen, La vie des fruits

370 Seiten, zahlreiche Abbildungen

Masson & Cie., Paris 1952, Fr. fr. 2000.— (zirka S. Fr. 25.—)

Mir ist eigentlich recht selten ein Buch wissenschaftlichen Inhaltes in die Hände gelangt, welches sich ganz speziell mit Früchten befasste. Um so mehr habe ich es begrüsst, einmal dieses grosse Gebiet eingehend beleuchtet zu sehen. Das Werk von *R. Ulrich* hat mich nicht enttäuscht.

Als Botaniker beschäftigt sich der Verfasser zwar in erster Linie mit biologischen Fragen, wie schon die Untertitel dies zeigen: «Origine, développement, structure, physiologie, composition chimique, maturation, sénescence, chute, champignons nuisibles.»

In dem 4. Teil «La composition chimique du fruit mûr» und im 5. «Echange et transformation de substances au cours du développement des fruits» werden immerhin, auf rund 150 Seiten, sehr viele chemische Probleme behandelt und die neuesten Forschungen berücksichtigt. Damit kommt also auch der rein chemisch Interessierte auf seine Rechnung. Doch auch die morphologischen und physiologischen Aspekte der Bildung, Reifung und des Zerfalles der Frucht, die in eingehender Weise dargelegt werden, können wohl jedem wertvoll sein, welcher in diese Materie etwas tiefer eindringen möchte.

Sehr umfangreich und sorgfältig zusammengestellt ist die Literatur, die auf nahezu 40 Seiten bis zum Jahre 1951 nachgeführt ist. Mit Freude stellte ich die Namen unserer Kollegen *Balavoine* und *Deshusses*, von *Fellenberg* und *Kobel* nebst den Zitaten aus unseren «Mitteilungen» und dem Landwirtschaftlichen Jahrbuch fest. Zahlreiche Zeichnungen erläutern den inneren Bau der Fruchtwewebe, graphische Darstellungen und chemische Formeln vervollständigen den Text. Eine Reihe prächtiger Tafeln macht mit selteneren tropischen und subtropischen Früchten sowie den Schädlingen der Früchte bekannt. Ein einziger Wunsch, der aber recht häufig bei Büchern französischer Herkunft anzubringen wäre, bleibt unerfüllt: ein eingehendes Sachregister. Abgesehen hiervon ist es ein schönes Werk, welches jedem, der sich eingehend mit Früchten befassen will, viel Wertvolles bieten wird.

Högl