

Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 64 (1973)

Heft: 1

Rubrik: Bericht über die 84. Jahresversammlung der Schweiz. Gesellschaft für analytische und angewandte Chemie am 22. und 23. September 1972 in Nyon = Compte-rendu de la 84^{ème} assemblée annuelle de la Société suisse de chimie analytique et appliquée les 22 et 23 septembre 1972 à Nyon

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: 23.08.2025

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

MITTEILUNGEN

AUS DEM GEBIETE DER

LEBENSMITTELUNTERSUCHUNG UND HYGIENE

VERÖFFENTLICHT VOM EIDG. GESUNDHEITSAMT IN BERN

Offizielles Organ der Schweizerischen Gesellschaft für analytische und angewandte Chemie

TRAVAUX DE CHIMIE ALIMENTAIRE ET D'HYGIÈNE

PUBLIÉS PAR LE SERVICE FÉDÉRAL DE L'HYGIÈNE PUBLIQUE À BERNE

Organe officiel de la Société suisse de chimie analytique et appliquée

ABONNEMENT:

Schweiz Fr. 33.— per Jahrgang (Ausland Fr. 40.—) Preis einzelner Hefte Fr. 9.— (Ausland Fr. 11.—)
Suisse fr. 33.— par année (étranger fr. 40.—) Prix des fascicules fr. 9.— (étranger fr. 11.—)

Band — Vol. 64

1973

Heft — Fasc. 1

Bericht über die 84. Jahresversammlung der Schweiz. Gesellschaft für analytische und angewandte Chemie

am 22. und 23. September 1972 in Nyon

Compte-rendu de la 84ème Assemblée annuelle de la Société suisse de chimie analytique et appliquée

les 22 et 23 septembre 1972 à Nyon

Teilnehmer - Participants

A. Gäste - Invités

Monsieur le Conseiller d'Etat *P. Schumacher*, Lausanne

Monsieur et Madame *R. Ruey*, Syndic de Nyon

Monsieur et Madame *M. Sandoz*, Président de l'Association des intérêts de Nyon

Herr Prof. Dr. med. *H. Aebi*, Präsident der Eidg. Ernährungskommission, Bern

Monsieur *F. Arendt*, Laboratoire de l'Etat du Luxembourg

Herr und Frau Prof. Dr. *H. D. Belitz*, Technische Hochschule München

Herr Dr. *E. Bretscher*, Vertreter der Schweiz. Gesellschaft für chemische Industrie,
Basel

Monsieur le Professeur Dr *R. Casares* et Madame, Directeur de la Escuela de Bromatologia, Madrid
Monsieur le Professeur Dr *E. Cherbuliez*, délégué de la Société suisse de Chimie, Genève
Herr *M. J. Fritsche*, Vertreter der Gesellschaft Schweiz. Lebensmittel-Inspektoren, Goßau
Herr und Frau Dr. *W. Fritsche*, Vertreter der Gesellschaft Deutscher Chemiker, Frankfurt
Herr Prof. Dr. *O. Högl*, ehemaliger Präsident der Schweiz. Gesellschaft für analytische und angewandte Chemie, Bern
Monsieur le Professeur Dr *E. sz. Kováts*, Ecole polytechnique fédérale, Lausanne
Herr und Frau Dr. *H. Lehner*, Präsident der Gesellschaft Schweiz. Mikroanalytiker, Bern
Monsieur et Madame le Dr *E. Matthey*, sous-directeur au Service fédéral de l'hygiène publique, délégué du département fédéral de l'Intérieur, Berne
Monsieur et Madame *Jean Ruffy*, président du Comité national suisse du Codex alimentarius, Berne
Monsieur et Madame *R. Souverain*, Inspecteur général du Service de la répression des fraudes et du contrôle de la qualité, Paris
Monsieur le Professeur *B. Susz*, délégué de la Société helvétique des sciences naturelles, Genève
Herr und Frau Prof. Dr. *A. Schürch*, Vertreter der Schweiz. Gesellschaft für Ernährungsforschung, Zürich
Herr Prof. Dr. *G. Schwarzenbach*, Eidg. Technische Hochschule, Zürich
Herr und Frau Prof. Dr. *H. Thaler*, Technische Hochschule, Braunschweig
Herr und Frau Prof. Dr. *A. von Zelewsky*, Vertreter der Schweizerischen chemischen Gesellschaft, Zürich

B. Ehrenmitglieder - Membres d'honneur

Herr Prof. Dr. *O. Högl*, Bern
Monsieur *J. Ruffy*, Berne

C. 228 Einzel- und Kollektivmitglieder - 228 membres individuels et collectifs
56 Damen - 56 Dames

Geschäftlicher Teil - Partie administrative

Le président, Monsieur le Dr *Y. Siegwart*, ouvre la 84ème assemblée annuelle, à 14.00 h, à l'Aula du collège secondaire de Nyon.

Les 2 et 3 septembre 1955, Montreux nous offrait l'hospitalité. Aujourd'hui, le canton de Vaud nous fait l'honneur de nous accueillir dans les murs de la ville de Nyon. Le président remercie le gouvernement cantonal et la Municipalité de Nyon de nous recevoir avec grande amabilité. Il adresse aussi un merci très cordial à Monsieur le Dr *A. Ramuz*, chimiste cantonal, et à ses collaborateurs pour le

soin et le talent mis à préparer cette assemblée et à la rendre agréable. Les Etablissements et les Maisons ci-après ont contribué par leurs dons à sa réalisation. Nous sommes heureux de leur exprimer notre gratitude.

Arkina SA, Yverdon
Bobst J. & Fils SA, Prilly
Boissons Desaltérantes SA, Lausanne
Bujard SA, Lutry
Chocolats Perrier, Chavannes près Renens
Fabrique d'allumettes Diamond SA, Nyon
Grands Moulins de Cossonay SA, Cossonay
Henniez-Lithinée, Henniez
Henniez-Santé, Henniez
Lusso & Cie, Lausanne
Marsens, Lausanne
Michel, Jus de fruits, Lausanne
Nestle SA, Vevey
Ofco SA, Prilly
Rinsoz et Ormond SA, Vevey
Sangal SA, Nyon
Schenk SA, Rolle
Siegenthaler SA, Lausanne
Société viticole de Perroy, Perroy
Testuz SA, Treytorrens-Puidoux
Union Vaudoise Laitière, Lausanne
Uvavin, Union Vaudoise d'Association Vinicole, Morges
Zanchi SA, Lausanne
Zyma SA, Nyon
Brasserie du Boxer, Romanel
Roth & Sauter, Lausanne
Hammel SA, Rolle

Le peu de temps disponible oblige le président à renoncer de mentionner les invités présents. Il souhaite la bienvenue à tous les participants de Suisse et de l'Etranger, exprimant sa satisfaction de les voir aussi nombreux. Il espère avoir l'occasion plus tard de saluer officiellement les personnalités dont la présence nous honore tout particulièrement.

Jahresbericht - Rapport annuel 1971—1972

Le compte-rendu de la 83^{ème} assemblée annuelle qui s'est tenue les 3 et 4 septembre 1971, à Arosa, a été publié dans le fascicule 1/1972 des «Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène». Aucune remarque n'étant faite ou n'étant parvenue à son sujet, ce compte-rendu se trouve accepté par l'assemblée.

Traktandenliste 1972 - Ordre du jour 1972

L'ordre du jour de l'assemblée 1972 a été adressé à nos membres avec l'invitation en temps voulu. Il est le suivant:

1. Rapport annuel du président
2. Rapport du caissier et des vérificateurs des comptes
3. Cotisation annuelle
4. Rapport des commissions
5. Nomination des vérificateurs des comptes
6. Choix du lieu de la prochaine assemblée annuelle
7. Divers

Les participants l'accepte tacitement.

Mitgliederbewegung - Mouvement des membres

Dix-neuf *membres individuels* ont été admis par le Comité depuis la dernière assemblée annuelle. Ce sont:

Dr. *Michel Erard*, Bern
Tranquillo Avigdor, Ing. agr. EPFZ, Lausanne
Heinz Knell, Vizedirektor, Lostorf
Dr. *Paul Jägerhuber*, Karlsruhe
Leo Scheck, dipl. Chemiker HTL, Kaisten
Jean-François Schopfer, Lausanne
Prof. Dr. *Zdenko Puban*, Zürich
Dr. *Bruno Willhalm*, Genève
Roger Michel, Lutry
Dr. *Jean-Daniel Aubort*, Montreux
Pierre Beaud, Lausanne
Hans Braun, Wädenswil
Dr. *Norbert Pfrogner*, Usingen i. T.
Thomas Theodor Müller, St. Gallen
Heinrich Egli, Basel
Dr. *Raoul Daniel*, Schlieren-Köniz
Wilfried Blum, Bern
Jacques Bosset, Lausanne
Dr. *Wilhelm Postel*, Freising-Weihenstephan

En outre, la Maison UFAG, Landor Holding AG, à Sursee, et les Laboratoires BACHEMA, à Zurich, ont été reçus *membres collectifs*.

Le président souhaite une cordiale bienvenue à ces nouveaux membres, exprimant l'espoir qu'ils trouveront au sein de notre Société les relations et l'émulation qu'ils attendent.

Au cours de l'année statutaire écoulée la mort nous a enlevé 5 membres, dont 1 membre d'honneur, 1 membre libre et 3 membres individuels:

Le 3 novembre 1971, mourrait à Lausanne, à l'âge de 70 ans, Monsieur *Jérôme Stalé*. Monsieur Stalé fut reçu dans notre Société en 1932 et nommé membre libre en 1967.

Un mois plus tard décédait à Bâle notre membre d'honneur Monsieur *Robert Jungkunz*. Monsieur Jungkunz avait atteint l'âge de 83 ans et fut membre de notre Société 37 ans.

Le 12 mars 1972, mourait Monsieur *Edmond Junker* de Vevey. Monsieur Junker avait 70 ans et entra dans notre Société en 1940.

Le 23 juin nous parvenait la nouvelle du décès subit de Monsieur *Karl-Heinz Eschmann*, de Niederglatt, âgé seulement de 48 ans. Monsieur Eschmann était membre de notre Société depuis 1955.

La mort a surpris, le 11 septembre 1972, Monsieur le Professeur *Reinhold Grau*, de Kelkheim. Monsieur Grau faisait partie de notre Société depuis 4 ans et s'était encore inscrit en compagnie de son épouse à l'assemblée de cette année.

Nous avons appris avec retard le décès d'un autre membre de notre Société, celui de Monsieur *Ernst Baumgartner* de Zoug, mort en 1969. Nous tenons à évoquer son souvenir en même temps que celui des membres décédés depuis notre dernière assemblée annuelle.

L'assemblée observe un instant de silence en mémoire de ses membres défunts.

Le Comité a pris acte des démissions suivantes:

Prof. Dr. *K. Bernhard*, Basel
Heinrich Huber, Ebmatingen
Rodolphe Perren, Sion
Kali AG, Bern
Nago Nahrungsmittel AG, Olten
Nuxo Werke AG, Rapperswil (SG)

Le nombre de nos membres a ainsi augmenté de 9. La répartition pour 1971 et 1972 se présente comme suit:

	1971	1972
membres d'honneur	7	6
membres individuels	310	321
membres collectifs	121	120
	<hr/>	<hr/>
	438	447

Nekrologe - Nécrologie

Robert Jungkunz

(1889—1971)

Am 3. Dezember 1971 erreichte uns die Nachricht, daß unser langjähriges Ehrenmitglied, *Robert Jungkunz*, im Alter von nahezu 83 Jahren unerwartet einer Herzschwäche erlegen ist. Am 28. Februar 1889 wurde Robert Jungkunz als Sohn eines deutschen Bahnbeamten im Elsaß geboren. Die Familie siedelte später nach Basel über, wo Robert Jungkunz das Realgymnasium besuchte. Nach bestandener Maturität trat er in das chemische Laboratorium des Verbandes Schweiz. Konsumvereine (VSK) ein. Von 1914 bis 1918 war er im Kriege in Deutschland, wo er als Sanitäter in Lazaretten tätig war und sich ein reiches Wissen in Krankenpflege und Seuchenbekämpfung aneignete.

Nach dem Kriege kehrte Robert Jungkunz wieder in das Labor des VSK nach Basel zurück. Seinen Traum, an der Basler Universität Chemie zu studieren konnte er aus finanziellen Gründen nicht verwirklichen. Durch Besuch von Vorlesungen und Kursen und in eifrigem Selbststudium eignete sich Robert Jungkunz im Laufe der Jahre ein reiches Wissen in Chemie an. Robert Jungkunz beherrschte das gesamte Gebiet der Lebensmittelchemie der damaligen Zeit. Auf jede Frage hatte er eine Antwort bereit und konnte mit Literaturzitaten und eigenen Arbeiten aufwarten. Schwierigen Problemen wußte er durch geschickt angelegte Versuche beizukommen. In verschiedenen Fachzeitschriften hat er Dutzende von wissenschaftlichen Arbeiten, vorwiegend analytischer Richtung, veröffentlicht. Er arbeitete unter anderem über Kakao, Kaffee, Tee und Gewürze. Sein Hauptinteresse galt jedoch der Fettchemie. Er untersuchte verschiedene pflanzliche und tierische Fette, über die man noch wenig wußte, verbesserte die Analysenmethoden und ging zum Teil neue, originelle Wege. Er entwickelte verschiedene Laborgeräte, wie beispielsweise seine einfachen aber wirksamen Extraktionsapparate und einen neuen, universell anwendbaren Perforator.

Seit 1934 war Robert Jungkunz Mitglied unserer Gesellschaft. Er wirkte auch tatkräftig in der Seifenkommission mit, welche 1943 die erste Auflage des Buches «Seifen und Waschmittel» herausgab. Seine ganze Kraft galt der Arbeit und der Pflichterfüllung. Im Jahre 1955, kurz nach seiner Pensionierung, wurde er zum Ehrenmitglied unserer Gesellschaft ernannt.

Robert Jungkunz lebte bescheiden und ziemlich zurückgezogen. Er verkehrte nur im engsten Freundeskreise. Große gesellschaftliche Anlässe hat er gemieden, er nahm auch nur selten an den Jahresversammlungen unserer Gesellschaft teil. In den letzten Jahren widmete er sich ganz seiner Familie und seinen beiden Enkelkindern.

All jene, welche mit Robert Jungkunz zusammen gearbeitet haben, werden diese Persönlichkeit in unauslöschlicher Erinnerung behalten.

H. H.

Edmond Junker

(1902—1972)

Edmond Junker s'est éteint subitement le 12 mars 1972. Depuis quelques temps déjà, il avait dû renoncer aux excursions en montagne qui lui étaient chères, mais rien ne laissait prévoir à son entourage un départ aussi rapide alors qu'il jouissait des loisirs d'une retraite bien méritée.

Edmond Junker étudia à l'Ecole d'ingénieurs de l'Université de Lausanne; il en sortit jeune ingénieur-chimiste en 1923. Il occupa ensuite le poste de chef de laboratoire chez Dubied, à Couvet, jusqu'en 1932. Après quelques années consacrées à l'enseignement dans une école privée, il entra, en 1935, au laboratoire de Contrôle de Nestlé où il assumait, jusqu'à sa retraite en 1967, la responsabilité d'un laboratoire d'analyses. Il apporta, dans son travail, un haut niveau de qualité et de précision; de nombreux chimistes et techniciens formés par ses soins ont apprécié son affabilité et ses talents didactiques.

Monsieur Junker fut appelé comme expert à Chocosuisse dans le cadre de l'Office international du cacao et du chocolat. Il participa aussi, au sein de la commission IX, à la mise au point de méthodes analytiques qui figureront dans la 2ème partie du Manuel suisse d'analyses des denrées alimentaires. Membre de la commission professionnelle d'apprentissage, il s'occupa activement de la formation des laborants vaudois, tâche qui lui tenait beaucoup à cœur.

Nous conservons le souvenir d'un collègue souriant et d'un scientifique de valeur. Entré dans notre Société en 1940, il suivit plusieurs de nos Assemblées annuelles et était très intéressé par nos travaux.

D. R.

Karl Heinz Eschmann

(1924—1972)

Am 23. Juni 1972 starb überraschend infolge einer Herzkrise *Karl-Heinz Eschmann*. Seit 1955 war er Mitglied unserer Gesellschaft.

Der Verstorbene wurde am 11. November 1924 geboren und verbrachte seine Jugendzeit in Bern. Nach seinem Studium an den Universitäten Fribourg und Bern erwarb er das eidg. Lebensmittelchemiker-Diplom. In der Folge arbeitete der Verstorbene am Eidg. Gesundheitsamt. In dieser Zeit entstand die Methode zur Zuckerbestimmung, die als komplexometrische Zuckerbestimmungsmethode nach Potterat und Eschmann in die Fachliteratur eingegangen ist. Nach einer kurzen Tätigkeit als Assistent am kant. Laboratorium in Bern, folgte er im Jahre 1959 einem Ruf als Kantonschemiker nach Zug. Außer seiner eigentlichen Aufgabe, nämlich der Durchführung der Lebensmittelkontrolle, interessierten ihn in besonderem Maße auch Fragen des Gewässerschutzes. Im Verbands der Kantons- und Stadtchemiker der Schweiz wurden ihm im Verlaufe der Jahre verschiedene Aufgaben übertragen. Insbesondere war er während vier Jahren Protokollführer.

Ein reiches Betätigungsfeld fand Karl-Heinz Eschmann als Präsident der hygienisch-bakteriologischen Kommission des Verbandes der Kantons- und Stadtchemiker. In der kurzen Zeit (1964—67), während welcher er dieser Kommission als Präsident vorstand, hatte er enorme Arbeit geleistet. Hier war er so richtig in seinem Element. Er hatte die Bedeutung der bakteriologischen Lebensmitteluntersuchung für die Zukunft klar erkannt und das grundlegende Material für das später erschienene Kapitel «Mikrobiologie und Hygiene» des Schweiz. Lebensmittelbuches zusammengetragen.

Nach seinem Ausscheiden aus dem Staatsdienste im Jahre 1967 blieb Karl-Heinz Eschmann der Lebensmittelhygiene weiterhin verbunden, indem er sich als Redaktor verschiedener Fachzeitschriften dem wissenschaftlichen Journalismus widmete. Unter ihm hatte sich insbesondere die «Alimenta» zu einer führenden Fachzeitschrift entwickelt.

Der Verstorbene war auch Mitbegründer der schweiz. Gesellschaft für Lebensmittelhygiene, welcher er seit Anfang an als Aktuar mit großem Einsatz diente.

Im Jahre 1971 eröffnete er ein eigenes Laboratorium, die Bactotox AG. Zweifellos konnte er auf die Dauer nur in der praktischen Laboratoriumstätigkeit seine volle Befriedigung finden. Innert kurzer Zeit hatte er sich einen treuen Kundenkreis erworben. Er bearbeitete vor allem das Feld der Bakteriologie industrieller Produkte. Mitten im Aufbau seines Laboratoriums wurde der emsig Tätige abberufen. Karl-Heinz Eschmann wird aber in seinen zahlreichen Publikationen und im Gedenken eines treuen Freundeskreises weiterleben. J. W.

Prof. Dr. Reinhold Grau

(1898—1972)

Wenige Tage vor der Jahresversammlung 1972, zu welcher er sich noch mit seiner Gattin angemeldet hatte, starb am 11. September 1972 Herr Prof. Dr. *Reinhold Grau* in seinem 75. Altersjahr an einem Herzversagen. Dieser Pionier der Fleischforschung und Fleischanalytik hatte noch wenige Tage zuvor dem Kongreß der Europäischen Fleischforscher in Kanada beigewohnt, eine Veranstaltung, welche er mit sieben Wissenschaftlern anderer Länder vor 18 Jahren in Finnland eingeführt hatte und die seither zu einer notwendigen, nicht mehr wegzudenkenden alljährlichen Institution geworden ist. Das ungewohnt heiße und schwüle Klima während des Kongresses mag indirekt Anlaß zur Verschlimmerung seines Leidens gewesen sein.

Prof. Dr. Reinhold Grau wird allen, die ihn kannten, als initiativer und unermüdlicher Forscher, Berater, Publizist und Lehrer, aber auch, mit seinem trockenen Humor, als guter Freund und Kollege in bester Erinnerung bleiben.

Reinhold Grau, am 22. Februar 1898 in Gutersloh geboren, vollendete 1916 sein Abitur, wurde dann zum Kriegsdienst eingezogen, studierte nach einer schweren Verwundung seit 1918 an der Universität Münster (Westfalen) Chemie, Physik

und Mineralogie und promovierte mit einer Arbeit «Ueber die Kontamination aromatischer Amine» zum Dr. phil. Er wirkte darauf als wissenschaftlicher Assistent am Kaiser-Wilhelm-Institut für Chemie in Berlin-Dahlem und an den Universitäten Münster und Braunschweig. Gleichzeitig bestand er nach einem ergänzenden Studium mit glänzendem Erfolg die Abschlußprüfung als Lebensmittelchemiker. 1934 bis 1938 übte er dieses Amt in Rostock und von 1938 bis 1940 als stellvertretender Leiter des Chemischen Untersuchungsamtes in Bielefeld aus. 1940 wurde Reinhold Grau als Direktor und Professor an das Institut für Chemie der Reichsanstalt für Fleischforschung in Berlin, die heutige Bundesanstalt für Fleischforschung in Kulmbach (Nordbayern), berufen. Von 1955 bis 1959 amtierte Reinhold Grau als deren Generaldirektor und nahm 1963 altershalber seinen Rücktritt. Seine unermüdliche Bereitschaft zur aktiven Mitarbeit und seine Liebe zur Forschung veranlaßten ihn, trotz des gesundheitshalber notwendigen Umzuges nach Kelkheim (Taunus), weiterhin viele Arbeiten und Bücher, aus seiner langjährigen, vielseitigen praktischen und analytischen Erfahrung schöpfend, zu veröffentlichen. So entstand sein viel Beachtung findendes Büchlein «Fleisch und Fleischwaren»; aber auch zum neuen «Handbuch der Lebensmittelchemie» hat er, vor allem mit seinen Kapiteln über Fleisch, Fleischwaren, Fleischextrakte, Suppen, Würzen und damit zusammenhängende Gebiete, einen wesentlichen Beitrag geleistet.

Seine übrigen Veröffentlichungen, welche die Zahl von 250 übersteigen mögen, waren stets von der Sorge getragen, seine Anliegen für die chemische Fleischforschung und -analytik der Welt bekannt zu machen. So war er vor zwei Jahren auch der Initiant und Schriftleiter der «roten» Schriftenreihe «Fleischforschung und Praxis» von welcher bereits 5 außergewöhnlich lehrreiche Bändchen herausgekommen sind (vgl. Mitt. **62**, 423—427, 1971), welchen voraussichtlich in nächster Zeit noch weitere folgen werden.

Mit Reinhold Grau, welcher in seiner Ehefrau eine unermüdliche Helferin fand, ist ein Mann von uns gegangen, der umfassende Kenntnisse der Lebensmittelchemie, aber auch der Fleischtechnologie und der Fleischwirtschaft besaß und auf diese Weise Unzähligen etwas vermitteln konnte; deshalb genoß er auch einen außerordentlich großen internationalen Ruf und durfte auch manche Ehrungen erfahren, wie die Verleihung der silbernen Max-von-Eyth-Münze (1963) und des «Großen Verdienstkreuzes des Verdienstordens der Bundesrepublik Deutschland (1965). Erst nachdem die chemische Fleischforschung und die amtliche analytisch-chemische Fleischkontrolle auch in der Schweiz, trotz erheblicher Widerstände, Fuß gefaßt hatte, wurde er auch im Jahre 1968 Mitglied unserer Gesellschaft, wo er sich, wie z. B. anlässlich der Jahresversammlung in Stansstad, mit jugendlichem Elan und vieler praktischer Erfahrung an der Diskussion beteiligte.

Ein leuchtendes Beispiel unermüdlicher und gründlicher Forschung und Aufklärungstätigkeit, besonders auf analytisch-chemischem Gebiete der Fleischchemie, ist mit Reinhold Grau dahingegangen.

O. D. Wy

Dr. Ernst Baumgartner

(1901—1969)

Am 29. November 1969 starb Herr Dr. *Ernst Baumgartner* in seinem Heim in Zug ganz unerwartet an den Folgen eines Herzschlages.

Nach seiner Tätigkeit als Chemiker in der Privatwirtschaft und bei der Eidg. Alkoholverwaltung übernahm der Verstorbene im Jahre 1948 die Direktion der Bahnhof-Kühlhaus AG in Basel. Mit der Uebernahme dieser Aufgabe hat für ihn ein neuer Abschnitt seiner beruflichen Tätigkeit begonnen, für den er seine ganze Tatkraft sowie hohes Wissen und Können mitbrachte. Während 20 Jahren hat er mit unermüdlichem persönlichem Einsatz die Entwicklung und das Gedeihen des Unternehmens beeinflusst. Seine Tätigkeit blieb jedoch nicht nur auf das Wirken im Kühlhaus beschränkt; er widmete sich den Fragen der Kältetechnik und Lebensmitteltechnologie im weitesten Sinne und erkannte die Bedeutung der Zusammenarbeit und des Erfahrungsaustausches der Fachleute dieses sich rasch entwickelnden Fachgebietes und förderte sie mit großer Hingabe und Ausdauer.

Nach seiner Studienreise in Amerika im Jahre 1950 hat Ernst Baumgartner mit dem Internationalen Kälte-Institut Kontakt aufgenommen und die Mitgliedschaft der Schweiz in diesem wichtigen internationalen Gremium durch die Initiative zur Gründung des schweizerischen Kältetechnischen Vereins gefördert. In der Folge hat er selbst als Mitglied des Direktionskomitees des Internationalen Kälte-Instituts und als Präsident eines seiner Komitees an die Aufgaben des Institutes einen bedeutenden und allseits anerkannten Beitrag geleistet.

In der Schweiz wirkte er viele Jahre im Vorstand des Schweizerischen Kältetechnischen Vereins mit und präsierte den Wissenschaftlichen Beirat des Schweizerischen Tiefkühl-Instituts, der unter seiner Leitung bedeutende Richtlinien für die Tiefkühlwirtschaft ausgearbeitet hat.

Ernst Baumgartner war seit 1956 Mitglied unserer Gesellschaft. Allen die ihn kennenlernen durften, wird sein Arbeitsethos, sein sozialer Sinn, sein Gerechtigkeitsempfinden und sein beispielhaftes kameradschaftliches Verhalten gegen Gleichgestellte, Vorgesetzte und Untergebene unvergessen bleiben. E. W.

Vorstand - Comité

Le Comité a tenu 5 séances au cours de l'année 1971/72. Répondant aux aimables invitations de Sociétés amies, il s'est fait représenter aux manifestations suivantes:

- Réception à l'occasion de l'Ilmac à Bâle, par notre caissier, Monsieur *M. Salvisberg*.
- Assemblée annuelle de la Société suisse de chimie à Zurich, par Monsieur le Professeur *J. Solms*.

— Réunion de la Société des microanalystes à Zurich et Assemblée annuelle de la Société des industries chimiques à Lausanne, par le président.

En outre le président a participé à une réunion qui s'est tenue à Zurich, pour étudier les problèmes concernant «L'image de la chimie que se fait la population suisse» et ceux de la formation et de la relève. Enfin, il a assisté, en qualité d'observateur, à un colloque européen qui s'est tenu à Heidelberg et qui a été convoqué dans le but de coordonner les activités en matière de chimie analytique des divers pays invités.

Le Comité suisse de la chimie a tenu une séance à Berne. Les représentants de notre Société au sein de ce Comité sont Messieurs Dr *M. Potterat* et Dr *A. Miserez*. M. le Dr *Y. Siegwart* a pris part à cette séance en tant que président de notre Société.

Notre vice-président, Monsieur le Dr *E. Bovay* et Monsieur le Dr *D. Reymond*, membre du Comité, ont été désignés délégués de notre Société auprès du «Comité suisse de l'Union internationale de la science et de la technologie alimentaire».

Wissenschaftliche Tätigkeit - Activité scientifique

Nous avons organisé un symposium sur les éléments traces dans les denrées alimentaires, qui a eu lieu le 21 mars 1972, à Berne. Plus de 100 membres y ont pris part. Huit conférences et communications traitant du rôle physiologique et du dosage des éléments traces dans les aliments y ont été présentées. Ces exposés ont été publiés dans le fascicule 2/1972 des «Travaux».

Le président exprime ses remerciements à ses collaborateurs et amis du comité pour leur dévouement.

Kassabericht - Rapport du caissier

Le caissier, Monsieur *Max Salvisberg*, commente les comptes de l'année 1971, dont il a distribué le bilan.

Les postes principaux se présentent comme suit:

Solde au chèque postal le 1er janvier 1971	Fr. 9 439.45
Entrées 1971	Fr. 12 831.70
	<hr/>
	Fr. 22 271.15
Sorties 1971	Fr. 22 231.35
	<hr/>
Solde au chèque postal le 31 décembre 1971	Fr. 39.80
Avoir au 31 décembre 1971	Fr. 36 680.45
Avoir au 1er janvier 1970	Fr. 36 366.30
	<hr/>
Augmentation de l'avoir en 1971	Fr. 314.15

Il est ensuite donné connaissance du rapport des vérificateurs des comptes, Messieurs *Th. Stäheli* et *Dr W. Manz*, qui proposent de les accepter et de donner décharge au caissier, ce qui est fait par acclamation. Des remerciements sont adressés par le président au caissier pour le soin et l'exactitude avec lesquels il gère les finances de notre Société.

Jahresbeitrag - Cotisation annuelle

Malgré l'augmentation du prix de l'abonnement aux «Travaux», qui interviendra dès 1973, l'assemblée approuve la proposition du Comité de laisser inchangées les cotisations annuelles, soit:

Membres individuels du pays	Fr. 20.—
Membres individuels de l'étranger	Fr. 25.—
Membres collectifs (minimum)	Fr. 50.—

Kommissionsberichte - Rapports des commissions

Les rapports des commissions, publiés ci-après, avaient été adressés à nos membres, avec l'invitation à l'Assemblée annuelle, pour qu'ils puissent les examiner au mieux.

Aucune remarque n'est parvenue au Comité et l'Assemblée accepte ces rapports sans observation.

Le président remercie les rapporteurs des 6 commissions restantes et tout particulièrement, Monsieur le Professeur *E. Cherbuliez*, rapporteur du Comité suisse de la chimie, qui quitte la fonction de président de ce Comité national et qui, par sa présence à l'Assemblée annuelle de ce jour, manifeste une fois de plus l'intérêt qu'il porte à l'activité de notre Société. Son successeur a été nommé en la personne de Monsieur le Professeur *Dr H. Schmid*, de Zurich.

A la suite de la démission de Monsieur le *Dr R. Morf*, secrétaire général de l'IUPAC depuis de nombreuses années et avec qui notre Société a eu l'honneur d'entretenir d'excellentes et fructueuses relations, le rapport de cette commission n'a pas été rédigé cette année. Selon toute vraisemblance il ne paraîtra plus à l'avenir dans notre compte-rendu annuel. En le regrettant, nous assurons Monsieur le *Dr Morf* de notre gratitude pour sa très appréciée collaboration.

Schweizerisches Komitee für Chemie - Comité suisse de la chimie

Période de septembre 1971 à juillet 1972

Rapporteur: Prof. *E. Cherbuliez*, président sortant, Genève

1. *Composition.* Le président en exercice, *M. E. Cherbuliez*, ayant demandé pour des raisons d'âge à être relevé de ses fonctions, le Prof. *H. Schmid*, prési-

dent sortant de la Société Suisse de Chimie, a été désigné pour lui succéder et a effectivement repris la présidence en août 1972. *M. Cherbuliez* continue de faire partie du Comité comme second délégué de la Société Suisse de Chimie dont l'actuel président, le Prof. *V. Prolog* (Zurich) est appelé à participer aux séances du Comité comme successeur de *M. Schmid*. La délégation de la Société Suisse de Chimie clinique a également changé: cette Société est représentée maintenant au Comité par le Dr *R. Zender*, de La Chaux-de-Fonds, et par son président, le Dr *W. Bürgi*, d'Aarau.

2. *Activités nationales*. Les affaires courantes ont été expédiées par correspondance dans la mesure où elles n'ont pas été l'objet des délibérations du Comité qui s'est réuni le 30 avril 1972. Signalons, parmi les décisions, que le Comité offrira une réception aux participants du 1er Congrès international de Chimie physique organique, organisé par la Suisse à Montana-Crans en septembre 1972 sous les auspices de l'IUPAC. Parmi les problèmes à l'étude mentionnons celui de la formation de la relève, celui de l'image de la chimie dans l'opinion publique en Suisse et celui, d'un intérêt historique, de la conservation d'un laboratoire au Château Reichenau, conservé pratiquement tel qu'il était en 1855—60, époque où l'illustre chimiste Kekulé y a travaillé.

3. *Activités internationales*. Les affaires courantes relatives à l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée et à celle de Biochimie ont été liquidées par correspondance; l'année 1973 n'étant pas une année de congrès internationaux concernant ces deux Unions, le volume des affaires a été réduit — Ici encore, les problèmes de l'enseignement de la chimie et de la formation de la relève, notamment dans les pays en voie de développement, sont à l'étude au sein de l'IUPAC, avec participation d'experts suisses.

Schweizerische Milchkommission

Berichterstatter: *O. Dönz*, dipl. Ing. agr., Chur

Der *Vorstand* der Schweiz. Milchkommission (SMK) befaßte sich neben den Vorbereitungsarbeiten für die 50-Jahr-Feier der SMK vom 5. September 1972 mit den letzten Differenzbereinigungen der Gesamtrevision des Milchlieferungsregulativs (Klärschlamm, Filtration der Milch und Tran-Zufütterung), einem neuen Reglement über Vorzugsmilch und auf Wunsch der Abteilung für Landwirtschaft EVD mit der Inangriffnahme einer Studie über sog. «Biologische Milch» (Sobiomi).

Von den Arbeiten der verschiedenen Spezialkommissionen seien nur einige stichwortartig aufgeführt:

Spezialkommission für hygienische Milchgewinnung. Diskussion über die Eignung von Eutertüchern aus Kunststoff zur Euterreinigung und über die Gewährleistung, daß Holz für die Herstellung von Holzwolle für die Euterreinigung nicht mit Insektiziden behandelt wurde.

Spezialkommission für Konsummilch. Eine Arbeitsgruppe unter medizinischer Leitung beschäftigte sich intensiv mit der Reaktivierung der Schulmilch. Es ist vor-

gesehen, eine Schrift mit aufklärendem Charakter herauszugeben, um die ziemlich verbreitete negative Einstellung zur Schulmilch zu korrigieren. Die Untersuchungen über den Anteil der hitzebeständigen Bakterienflora in der Konsummilch wurden fortgesetzt.

Spezialkommission für Käse- und Butterfabrikation. Der Zusatz von Nitrat bei der Käsefabrikation ist nach unserer Lebensmittelgesetzgebung nicht zulässig. Die Kommission beantragt dem Vorstand der SMK schriftlich an das Eidg. Gesundheitsamt zu gelangen, um eine bessere Kontrolle über die Nitrat-Verwendung anzuregen, und zwar nicht nur bei der schweizerischen Fabrikation, sondern auch bei den Importkäsen. Von der einmaligen Milcheinlieferung, verbunden mit Tiefkühlung auf dem Hofe, soll in Käsereigebieten nur mit äußerster Zurückhaltung Gebrauch gemacht werden.

Spezialkommission für amtliche Kontrolle der Milch und Milchprodukte. Kräuterbutter, Café de Paris-Butter und Gewürzbutter wurden durch eine Arbeitsgruppe als Mischung aus Butter, Kräutern, Gewürzen und andern aromatisierenden Bestandteilen umschrieben. Es wurde vorgeschlagen: mindestens 60 % Butterfett, Fremdfett verboten, Kochsalzgehalt maximal 2 %, Zulassung von Stabilisatoren und Emulgatoren.

Weiter standen zur Diskussion Differenzbereinigungen mikrobiologischer Richtwerte von Vorzugs- und Tafelbutter und die Pasteurisationsfrage von Quark und Frischkäse.

Spezialkommission für industrielle Milchverarbeitung. Die Tätigkeit der Kommission konzentrierte sich im abgelaufenen Jahr weiterhin auf die Probleme der UHT-Sterilisation von Milch.

Spezialkommission für Ernährung. Im November 1972 ist eine Tagung vorgesehen über das interessante Thema «Möglichkeiten der diätetischen Verwendung von Milch und Milchprodukten».

Verschiedene Mitglieder unserer Gesellschaft haben ihre langjährige Mitarbeit im Schoße der Kommission der SMK niedergelegt. Es sind dies die Herren Prof. Dr. E. Zollikofer, Zürich, Dr. E. Walder, Hochdorf und W. Wyß, Bern. Ihre fruchtbare Arbeit in der SMK sei auch hier bestens verdankt.

Schweizerische Tabakkommission

Berichterstatter: Dr. E. Romann, Zürich

Die Mitglieder der Tabakkommission haben auch dieses Jahr laufend die aktuellen Probleme auf dem Gebiete des Tabaks und der Tabakwaren verfolgt. Zur Revision der Lebensmittelgesetzgebung über Tabakwaren fand eine erste Besprechung statt. Die wichtigsten Methoden des Lebensmittelbuches, Kapitel Tabak, sind zusammengestellt und können nächstens an einer Sitzung bereinigt werden. Anschließend werden sie dann der Eidg. Lebensmittelbuchkommission eingereicht.

Kommission für Seifen und Waschmittel

Berichterstatter: Dr. J. Jutz, Biel

Im vergangenen Berichtsjahr ist die Kommission nicht zusammengetreten. Die Mehrzahl der Kommissionsmitglieder ist der Ansicht, die entsprechenden Arbeiten der Subkommission des LMB für die Kapitel 52, 53 und 54 abzuwarten. Die Herausgabe letzterer sollte im Jahre 1973 erfolgen. Es besteht berechnigte Hoffnung, daß in allernächster Zeit die ersten Entwürfe vorliegen werden, die dann von der Kommission für Seifen und Waschmittel in gemeinsamer Arbeit überprüft und gleichzeitig als Grundlage für ihr neues Werk weiter verwertet werden.

Schweizerische Lebensmittelbuchkommission

Berichterstatter: Dr. E. Matthey, Präsident, Bern

Durch unerwarteten Todesfall verlor die Kommission am 31. Mai d. J. ihr Mitglied Prof. Dr. E. C. Grob von der Universität Bern. Infolge einiger Rücktritte auf Ende der laufenden Amtsperiode wird sich die Kommission bald mit mehreren Ersatzwahlen zu befassen haben.

In der Berichtsperiode von August 1971 bis Juli 1972 versammelte sich die Kommission zu sechs Sitzungen. Dabei wurden neun Kapitel und Unterkapitel des neuen Lebensmittelbuches im Entwurf besprochen und grundsätzlich für die Drucklegung angenommen. Das Kapitel 30 «Wein» wurde einer großen Revision unterzogen und soll neu herausgegeben werden. Die Kommission ließ sich durch Referate über zwei geplante Kapitel orientieren, die wegen ihres Umfanges bzw. ihres schwierigen Sachgebietes eine gewisse Sonderstellung einnehmen werden: 43 «Aromastoffe» und 46 «Pestizidrückstände». Beide gaben Anlaß zu lebhaften Diskussionen. Im weiteren diskutierte die Kommission über Themen wie die Behandlung gesundheitsschädlicher Lösungsmittel, allfällige gesundheitsschädliche Substanzen in Textilien sowie die eventuelle Revision bestimmter Kapitel im LMB.

LMB zweiter Band, deutsch. Auf eine Wiederholung der vor einem Jahr hier gemachten Bemerkungen sei verzichtet. Die 6. Lieferung (1971) gelangte im Herbst zum Versand. Die 7. Lieferung (Ringbuch II) mit den Kapiteln «Cerealien und Hülsenfrüchte», «Trinkwasser» und «Kochsalz» erscheint demnächst. Die weiteren Kapitel, deren Probeabzüge weitgehend bereinigt sind, heißen «Butter», «Margarine», «Mahlprodukte und Stärke», «Obst und Gemüse».

LMB zweiter Band, französisch. Die Uebersetzungs- und Redaktionsarbeiten kommen nur langsam voran. Die Vorbereitung der ersten Kapitel für die französische Ausgabe wurde noch dadurch verzögert, daß das bereits gedruckte Kapitel «Vin» bis zum Vorliegen des definitiven revidierten Textes zurückgestellt werden mußte. Trotzdem dürfte nun der Beginn der Veröffentlichung in Sichtweite rücken.

Wir möchten auch hier auf die jeweiligen Ankündigungen zur Veröffentlichung des Lebensmittelbuches in den «Mitteilungen» hinweisen.

Wahlen - Elections

Sur proposition du Comité, MM. *Th. Stäheli* et Dr. *W. Manz* sont réélus par acclamation réviseurs des comptes.

Festlegung des nächstjährigen Tagungsortes - Choix du lieu de la prochaine assemblée annuelle

La prochaine assemblée annuelle se tiendra vraisemblablement dans le canton d'Argovie. Monsieur le Dr *Weilenmann*, chimiste cantonal, informera le Comité en temps voulu.

Verschiedenes - Divers

Le président a le plaisir de proposer, au nom du Comité, la nomination du Professeur *G. Schwarzenbach*, de l'Ecole polytechnique fédérale de Zurich, comme membre d'honneur, en hommage à ses remarquables travaux dans le domaine de la chimie analytique. Le président, Monsieur le Dr *Siegwart*, conscient de ne relever qu'une bien petite partie des mérites que s'est acquis le Professeur *Schwarzenbach* en Suisse et sur le plan international, s'exprime en ces termes:

«Elève du Professeur *Treadwell*, sous l'égide duquel il élaborait sa thèse de doctorat, le Professeur *Schwarzenbach* s'intéressa très jeune aux réactions acides-bases, thème de sa conférence de ce jour. Il était alors âgé d'une trentaine d'années. Des stages effectués dans différents instituts scientifiques, notamment aux USA, complétèrent la formation du jeune chimiste. Sa carrière professorale débuta en 1944 à l'université de Zurich et se poursuivit, comme successeur du Professeur *Treadwell*, à la chaire de chimie inorganique de l'Ecole polytechnique fédérale. Ses importants travaux dans le domaine des complexes métalliques ont apporté aux chimistes une nouvelle technique d'analyse de grande valeur, entrée depuis dans tous les laboratoires.

Nous admirons dans le Professeur *Schwarzenbach*, avant tout, le grand analyste. Nous vous proposons en signe de reconnaissance et de respect de le nommer membre d'honneur de notre Société.»

De vibrants applaudissements saluent les paroles de notre président et viennent approuver la proposition du Comité.

Le président fait ensuite quelques remarques au sujet de la publication de notre organe officiel, les «Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène». Sa parution est devenue plus régulière; il reste néanmoins des lacunes à combler, qui préoccupent aussi bien le Comité que les membres de notre Société. Une entrevue a eu lieu entre le chef du Contrôle des denrées alimentaires du Service fédéral de l'hygiène publique et notre président. Il a été décidé à cette occasion d'étudier les problèmes suivants:

- Responsabilité accrue de notre Société dans la rédaction et la parution de la revue.
- Formation d'un comité de rédaction paritaire comprenant des collaborateurs du Service fédéral de l'hygiène publique et des membres de notre Société.
- Etablissement d'un règlement fixant les charges de ce comité.
- Il est prévu que ce comité de rédaction aura notamment la responsabilité d'examiner les articles scientifiques qui lui seront adressés, de décider de leur publication, d'exercer la surveillance du niveau de la revue, de proposer les améliorations qui lui paraîtraient souhaitables.
- Garantir la publication dans un délai de 6 mois des articles acceptés.
- Parution à dates régulières des fascicules de la revue.
- Prestations de nos membres.

Notre président remercie le chef du Contrôle des denrées alimentaires, Monsieur le Dr *E. Matthey*, pour la compréhension qu'il a témoignée à l'égard de notre requête et de nos propositions. Nos efforts communs permettront sans doute de trouver une solution satisfaisant les intéressés.

Wissenschaftlicher Teil - Partie scientifique

Deux conférences principales ont ouvert la partie scientifique. Monsieur le Professeur *G. Schwarzenbach*, qui venait d'être nommé membre d'honneur, remercie l'assemblée de l'estime qu'elle lui a ainsi témoignée. Son exposé sur l'histoire et la signification des acides et des bases en chimie analytique a charmé l'auditoire autant qu'il l'a captivé. L'anecdote instructive, la réflexion, les déductions savantes s'y sont côtoyées dans une gracieuse philosophie de la chimie.

La deuxième conférence principale, de Monsieur le Professeur *E. Kováts*, a enthousiasmé l'auditoire, attentif à l'écoute de ses patients et difficiles travaux, entrepris pour élucider quelques-uns des mystères des aromes.

Ces deux conférences principales, ainsi que les 11 communications brèves qui suivirent le vendredi et le samedi matin, se trouvent publiées ci-après.

Nous exprimons aux conférenciers notre vive gratitude d'avoir contribué avec grand dévouement et distinction à la réussite de notre assemblée annuelle 1972, à Nyon.

Geselliger Teil - Partie récréative

Le vendredi matin, la visite de la Station fédérale de recherches agronomiques de Changins a été suivie avec un vif intérêt par de nombreux participants. Nous adressons nos remerciements à Monsieur le Directeur *M. Rochaix* et à ses collaborateurs pour leur aimable accueil.

En fin de journée, le banquet traditionnel a été servi dans un cadre inhabituel et d'autant plus sympathique que la partie officielle n'a pas été trop sévère.

Les tours de passe-passe d'un prestidigitateur, autant artiste qu'habile, ont mis un point final à cette première journée.

Le samedi, en fin de matinée, l'Aula de l'Ecole secondaire de Nyon et les problèmes de chimie analytique ont été délaissés sans grande peine. Les attrait du lac, du paysage et du soleil, comme ceux du lunch servi sur un majestueux bateau sans vapeur, ont apporté une agréable détente aux participants de cette assemblée annuelle qui se termina au gré de conversations amicales, sur l'eau d'un Léman aimable autant que romantique. Le secrétaire: *A. Miserez*

Mitgliederliste - Liste des membres

Seit der Drucklegung der in Heft 4/1972 der «Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene» publizierten Mitgliederliste ergaben sich folgende Aenderungen:

Les changements suivants sont intervenus depuis l'impression de la liste de nos membres, publiée dans le fascicule 4/1972 des «Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène»:

Ehrenmitglieder - Membres d'honneur

Bornand M., Prof. Dr. a. Chimiste cantonal, Juste Olivier 19, Lausanne (décédé)
Schwarzenbach G., Prof. Dr., Schäppistrasse 10, Zürich (nouveau membre d'honneur)

Freimitglieder - Membres libres

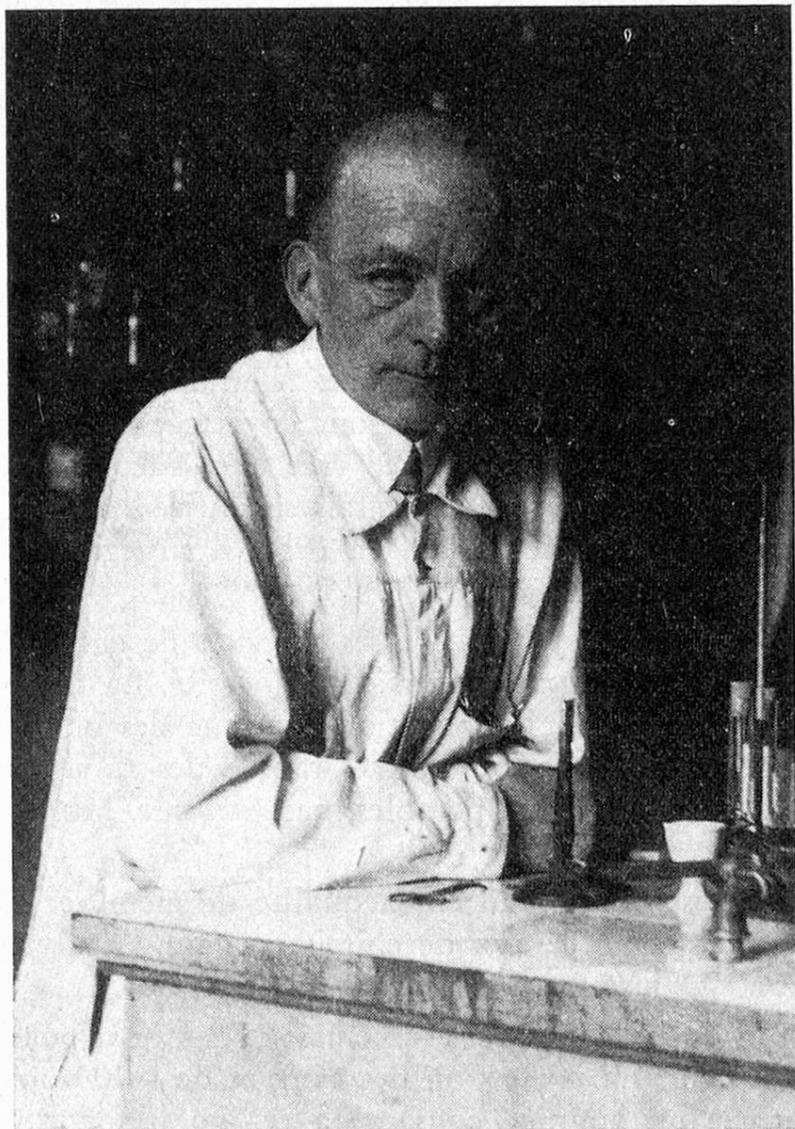
Deshusses Louis, Dr. a. Dir. Labor. chimie agricole, Ch. Dupuy 20 C, Conches/Genève
Ritter W., Dr., Sonnegrain 1, Spiegel-Bern
Schoch W., Dr., a. Dir., Schloßstrasse 20, Köniz

Einzelmitglieder - Membres individuels

Baumgartner Hans, Prof. Dr. med. vet., Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Liebefeld-Bern
Blanc Bernard, Prof. Dr., Dir. Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Liebefeld-Bern
Bovay Ernest, Dr., Dir. Eidg. Forschungsanstalt für Agrikulturchemie und Umwelthygiene, Liebefeld, Kastanienweg 55, Spiegel-Bern
Fivian Werner, Dr., Burgegweg 4, Aarberg
Hasler Arthur, Dr., Höheweg 41, Liebefeld-Bern
Hüni Karl, Dr., Arvenweg 8, Spiegel-Bern
Schnetzer Hans-Lothar, Dr., Wabersackerstrasse 87, Liebefeld-Bern
Stalder Kurt, Direktor, Ing., Baumgasse 131, Wien (admission: 1955)

Kollektivmitglieder - Membres collectifs

Eidg. Forschungsanstalt für Agrikulturchemie und Umwelthygiene, Schwarzenburgstrasse 155, Liebefeld-Bern



Hommage au Prof. Dr Marcel Bornand

ancien chimiste cantonal
vaudois, membre d'honneur
de la Société suisse
de chimie analytique
et appliquée

Le professeur Marcel Bornand est décédé le trois février dernier, à l'âge de 86 ans. Originaire de Sainte-Croix, le défunt avait fait toutes ses études à la Faculté des sciences de l'Université de Lausanne, où il avait obtenu le diplôme de chimiste analyste, bientôt suivi du doctorat ès sciences.

Il entrait en 1908 au Laboratoire cantonal pour le contrôle des denrées alimentaires. Très tôt attiré par les questions de microbiologie liées à l'altération des produits alimentaires, il oriente ses recherches sur les examens bactériologiques, sérologiques et parasitologiques des eaux, des viandes, des laits et des produits végétaux.

Le domaine de l'hygiène alimentaire le passionne. Les méthodes d'analyse à disposition à l'époque sont sommaires: chaque laboratoire travaille un peu selon ses propres modes opératoires. L'appréciation des résultats est difficile et conduit à des divergences peu compatibles avec les exigences du contrôle. Marcel Bornand, alors adjoint du chimiste cantonal, s'attaque à ces problèmes, pour faire admettre l'intérêt des examens microbiologiques dans les milieux des chimistes cantonaux

plus portés sur les analyses chimiques et la recherche des falsifications que sur la protection sanitaire des denrées. Il travaille en étroite collaboration avec le professeur Galli-Valerio, titulaire de la chaire d'hygiène et de bactériologie à la Faculté de médecine. Une centaine de publications diverses naissent de cette collaboration.

En 1937, il est privat-docent et donne un cours d'hygiène alimentaire à la Faculté de médecine.

En 1938 il est nommé au poste de chimiste cantonal. Il mène de front la direction du laboratoire cantonal et son activité à l'Université. A la mort du professeur Galli-Valerio, en 1941, des réformes de structure sont envisagées au sein de l'Université concernant l'enseignement de l'hygiène. On crée à la Faculté des sciences une chaire d'analyse et d'hygiène des denrées alimentaires, confiée à Marcel Bornand, en qualité de professeur extraordinaire. De 1941 à 1956, il enseigne ces deux disciplines aux candidats chimistes et pharmaciens.

Le professeur Bornand peut alors faire la synthèse de ses activités de chef du Contrôle des denrées du canton de Vaud et de chercheur à l'Université. La tâche est ardue, mais passionnante. Il faut aboutir à l'application pratique des observations de laboratoire, permettant une appréciation simple, rapide des résultats directement utiles au contrôle des denrées, des eaux potables, par exemple. Marcel Bornand s'y emploie avec succès.

Le même souci préoccupe le professeur Bornand en sa qualité de membre de la Commission d'experts pour les examens fédéraux de chimistes, pour l'analyse des denrées alimentaires, où il fonctionne jusqu'en 1956.

En 1949, Marcel Bornand démissionne de son poste de chimiste cantonal pour se vouer entièrement à son enseignement. La protection des eaux et de l'environnement l'inquiète. En 1952, il publie un ouvrage consacré à ces questions, qui ne rencontre que peu d'échos.

Les incidences de la pollution sont insidieuses, elles ne sont pas encore spectaculaires. Les scientifiques qui en dénoncent les premiers symptômes ne sont pas pris au sérieux. Ils prêchent dans le désert. Pourtant, Marcel Bornand encourage ses anciens collaborateurs au Laboratoire cantonal à persévérer dans cette voie, et leur prodigue ses conseils. Ses articles dans les journaux et dans les périodiques scientifiques le désignent à l'attention des autorités qui l'appellent à siéger au sein de la Commission fédérale pour la protection de la nature, où ses avis sont fort appréciés.

Il était entré très jeune, en 1909, dans la Société suisse de chimie analytique et appliquée. Membre assidu aux réunions, il a participé aux travaux scientifiques par certaines de ses publications. Il a collaboré au Comité en qualité de vice-président. En 1953, il a reçu le titre de membre d'honneur en reconnaissance de son activité constante et dévouée.

Le professeur Bornand passait ses loisirs à parcourir la campagne et la montagne hors des chemins battus, spécialement en Valais. Il a écrit une plaquette consacrée à Isérables, traitant aussi bien de la flore et de la faune que du folklore.

Atteint petit à petit dans sa santé au cours de sa vieillesse, il ne renoncera qu'à la limite du possible à ses randonnées à Isérables.

Marcel Bornand s'est éteint paisiblement. Il laisse derrière lui le souvenir d'un homme de cœur au caractère jovial. Le contact avec les montagnards lui avait enseigné la vanité des honneurs et ses mondanités.

Plus enclin à rendre service qu'à sévir, son caractère généreux s'accommodait mal de l'aspect répressif — par certains côtés — de la fonction de chimiste cantonal. Il laissait volontiers à ses collaborateurs le soin de préparer les dénonciations inhérentes à cette activité, préférant l'ambiance de son laboratoire pour méditer et compléter son cours. Il recherchait volontiers le dialogue avec ses étudiants et avec ses collaborateurs.

Pourtant, il a accepté avec résignation l'isolement dans lequel il s'est trouvé confiné pendant ses dernières années. Ne pouvant plus lire ni entendre, il avait gardé malgré tout une sérénité souriante. C'était un homme bon, sensible et cultivé.

Emile Matthey

Säuren und Basen — Geschichte und analytische Bedeutung

Vorerst möchte ich mich für die Einladung zu diesem Vortrag bedanken. Ich zweifle, ob ich diese Ehre wirklich verdient habe, denn ich bin zwar ein sehr langjähriges Mitglied Ihrer Gesellschaft, aber eines, das sich sehr passiv verhalten hat. Vor langer Zeit unterrichtete ich einmal analytische Chemie an der Universität Zürich und 1955 wurde ich an die ETH auf den Lehrstuhl eines berühmten Analytikers — F. P. Treadwell — berufen. Aber schon damals lautete die Bezeichnung des zu vertretenden Faches nicht mehr nur «Analytische Chemie», sondern «Anorganische und analytische Chemie» und ich muß gestehen, daß ich dafür sorgte, daß die analytische Chemie in dem ETH-Laboratorium, dessen Leitung ich übernommen hatte, in Lehre und Forschung der anorganischen Chemie immer mehr Platz abtrat.

1. Chemische und physikalische Analysenmethoden

Das hängt zusammen mit der Entwicklung der analytischen Chemie zu einer instrumentellen Technik. Es konnte schwerlich die Hauptaufgabe eines Hochschulinstitutes sein, bei der Entwicklung und Vervollkommnung solcher Instrumente, die mit großen Mitteln von reichen Instrumenten-Firmen betrieben wird, mitzuwirken. Eine solche Tätigkeit hat nämlich kaum mehr etwas mit Chemie zu tun. Für die anorganische Analyse, die sich in erster Linie mit dem Nachweis und der Bestimmung der metallischen Elemente zu befassen hat, handelt es sich bei diesen physikalischen Methoden um die Emissionsspektralanalyse, die Atomabsorption, die Röntgenfluoreszenz und Aktivierungsanalyse. Die zu analysierenden Stoffe werden dabei entweder atomisiert, so daß man es nachher mit Atomspektroskopie und nicht mehr mit chemischen Verbindungen zu tun hat, oder man wertet Eigenschaften aus, welche vornehmlich den Atomkern und die innere Elektronenhülle betreffen, während die Chemie von den äußeren Elektronen abhängt. Die zu lösenden Probleme sind dabei rein technischer Natur. Man hat sich etwa darum zu kümmern, wie das zu analysierende Material verlustlos in einen elektrischen Funken, Lichtbogen oder eine heiße Flamme eingebracht werden kann, oder in eine nichtflüchtige Matrix einzubauen ist, welche nur leichte Elemente enthalten soll. Ich glaube, es war richtig, daß wir uns nicht in erster Linie mit derartigen technischen Aufgaben befassen wollten, sondern mit grundlegenden Fragen der anorganischen Chemie, die in unserem Lande noch immer eine unterentwickelte Wissenschaft ist.

In früheren Zeiten war das Verhältnis der Analytik zu der chemischen Forschung ein ganz anderes. Da man ausschließlich chemische Analysenmethoden kannte, war bei der Suche nach neuen Analysenverfahren oft chemisches Neuland zu erschließen. Die Entwicklung der Analytik war früher deshalb oft für die Ent-

wicklung der Chemie in ihrer Gesamtheit von Bedeutung. Das möchte ich Ihnen heute zeigen anhand der Geschichte der Säuren und Basen.

Bevor ich damit beginne, muß aber noch etwas gesagt werden zu den Begriffen der chemischen und physikalischen Analysenmethoden. Bei den chemischen Verfahren wird der zu bestimmende Anteil in eine chemische Verbindung überführt und diese dann gewogen (Gravimetrie), deren Menge optisch gemessen (Spektralphotometrie) oder die Menge des Reagenzes registriert, welche für die betreffende Reaktion benötigt wird (Titrimetrie). Ob eine analytische Methode chemisch oder physikalisch ist, richtet sich nicht nach den Instrumenten, die wir benutzen. Gewisse Instrumente benötigen auch die chemischen Verfahren. Man denke nur an Waage, Photometer und Potentiometer. Der Endpunkt von Titrationen wird manchmal durch recht komplizierte physikalische Geräte angezeigt.

Charakteristisch für die physikalischen analytischen Methoden ist, daß keine Ueberführung des zu bestimmenden Bestandteils in eine genau stöchiometrisch zusammengesetzte Verbindung erfolgt. Da dieser Prozeß wegfällt, sind physikalische Methoden sehr rasch und sie lassen sich standardisieren und automatisieren. Darin liegt ihre Stärke und deshalb sind sie so attraktiv. Der große Nachteil der physikalischen Analysenverfahren ist aber, daß es keine Absolutmethoden sind. Man ist auf Standardproben angewiesen, mit denen die Instrumente immer wieder geeicht werden müssen, und oft hat man diese Standardproben vorher chemisch analysiert. Chemische Methoden werden deshalb stets von grundlegender Bedeutung bleiben. Chemische Methoden sind in der Regel auch genauer als physikalische Verfahren, ausgenommen, wenn es sich um die Erfassung von Spurenelementen handelt, und ein großer Vorteil ist auch, daß man mit viel einfacheren apparativen Mitteln auskommt und daß sie sehr anpassungsfähig sind. Eine zweckmäßige Kombination von chemischen und physikalischen Methoden wird auch in Zukunft das Richtige sein.

2. Klassierung chemischer Reaktivitäten

Um die Möglichkeiten der chemischen Analysenmethoden überblicken zu können, benötigen wir eine Uebersicht über die chemische Reaktivität. Wir müssen fragen, welche chemischen Prozesse zu einer eventuellen analytischen Auswertung generell zur Verfügung stehen.

Vorerst können wir zwei große Gruppen unterscheiden, nämlich Reduktions- und Oxydations-Prozesse einerseits und Säure-Base-Prozesse andererseits (Tabelle 1).

Es handelt sich um eine phänomenologische Klassifikation, die ich folgendermaßen rechtfertigen möchte. Zur Charakterisierung der Elemente in ihren Verbindungen werden zwei Zahlen benötigt, nämlich eine Zahl, welche die stöchiometrische Zusammensetzung regelt und eine solche, welche die Struktur zum Ausdruck bringt. Dieses ist die wesentliche Erkenntnis von *Werners* Koordinationslehre (1). Die erste dieser Zahlen heißt bei *Werner* «Hauptvalenzzahl» und da sie nur über die Stöchiometrie Auskunft geben, aber nichts zu tun haben soll

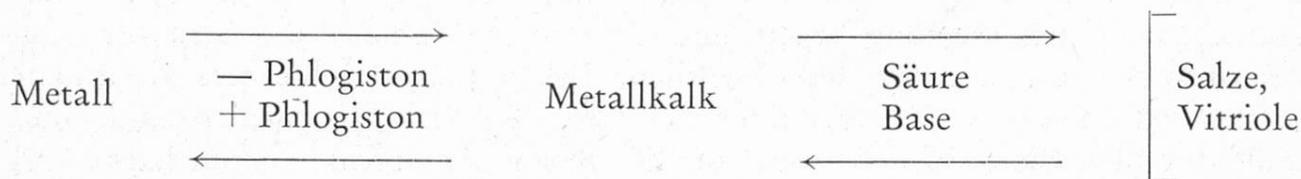
mit der Zahl der vom betreffenden Atom ausgehenden Bindungen, interpretiert man sie heute als Ladungszahl — Oxydationsstufe genannt. Die Struktur andererseits wird durch die Koordinationszahl, zusammen mit der Koordinationsgeometrie, zum Ausdruck gebracht. Es ist bemerkenswert, daß diese Begriffe aus *Werners* Arbeit von 1893 (2) noch heute unentbehrlich sind und sogar die Grundlage für die Nomenklatur der Verbindungen metallischer Elemente bilden, obschon inzwischen die Atomtheorie entstand, die unsere Ansichten über die Natur der chemischen Bindung so grundlegend veränderte. Dieser Erfolg von *Werners* Begriffen ist einfach darauf zurückzuführen, daß diese bewußt eine Aussage über die physikalische Natur der Bindungen vermeiden, was deutlich in dem Wort Koordination (einander zugeordnet), zum Ausdruck kommt. Die physikalische Natur der chemischen Bindungen, insbesondere derjenigen, die von Metallatomen ausgehen, ist auch heute noch eine höchst kontroverse Angelegenheit und es ist angezeigt, dieser Frage aus dem Wege zu gehen, wenn man die Phänomene ordnen will.

Da man nun aber zwei Zahlen benötigt, um die Elemente in ihren Verbindungen zu charakterisieren, muß es auch zwei Reaktionstypen geben. Bei chemischen Prozessen kann sich entweder die Oxydationsstufe, oder es können sich die Koordinationsverhältnisse ändern. Damit haben wir die zwei großen Gruppen der Tabelle 1.

Tabelle 1 Phänomenologische Klassifikation chemischer Vorgänge

- I. Aenderung der stöchiometrischen Wertigkeit:
Reduktion — Oxydation. Elektrontransfer
- II. Aenderung der Koordinationsverhältnisse:
Säure-Base-Prozesse
Komplexbildung, Komplexzerfall, Ligandsubstitution,
Protonübertragung, Fällung und Auflösung.

Die Einteilung der chemischen Reaktionen in die beiden Klassen I und II ist schon sehr alt. Tatsächlich beginnt die rationelle Chemie nach Ueberwindung des irrationalen alchemistischen Denkens gegen Ende des 17. Jahrhunderts mit eben dieser Unterscheidung zwischen Redoxvorgängen einerseits und Neutralisationsreaktionen andererseits. Die Herstellung der Metalle aus den Erzen, deren Verkalkung an der Luft und die Einwirkung von Säuren auf die Metallkalke standen damals im Vordergrund des Interesses. Die beobachteten Erscheinungen wurden mit dem folgenden Schema gedeutet:



Die naheliegende Idee, daß gemeinsames Verhalten verschiedener Materialien von einem gemeinsamen Inhaltsstoff herrühren müsse, ließ die Vorstellung entstehen, alle Metalle würden ein gemeinsames metallisches Prinzip enthalten, nämlich das Phlogiston. Den Namen erhielt dieser hypothetische Stoff von der Erfahrung, daß die zur Reduktion der Metallkalke brauchbaren Materialien (z. B. Kohle), die das Phlogiston ebenfalls enthalten mußten, brennbar sind (3). Wir brauchen das Wort Phlogiston lediglich durch Elektron zu ersetzen, um die Begriffe der Phlogistonepoche und deren Zweckmäßigkeit sofort zu verstehen. Die elementaren Metalle enthalten in der Tat etwas Gemeinsames, nämlich leicht bewegliche Elektronen (4). Diese werden abgegeben, wenn das Metall verbrennt, also in das Oxid übergeht und werden vom Metallion wieder aufgenommen, geliefert vom Reduktionsmittel, beim umgekehrten Vorgang. Metallverbindungen, die ein und dasselbe Metall in verschiedener Oxydationsstufe enthalten, z. B. die Manganoxide MnO , Mn_2O_3 , MnO_2 , wurden beschrieben als Metallkalke, die das Phlogiston in verschiedenem Ausmaß verloren haben, so wie wir heute von Mn(II), Mn(III) und Mn(IV) sprechen, die durch Elektronenabgabe ineinander übergehen. Die Phlogistiker kannten den wesentlichen Unterschied der oxydierenden Salpetersäure im Vergleich zu den nicht-oxydierenden Salzsäure sehr gut und beschrieben ihn mit der Aussage, die Salpetersäure wirke im Gegensatz zur Salzsäure dephlogistierend. Ein analoger Unterschied besteht zwischen Sauerstoff (Lebensluft) und Stickstoff, von denen nur ersterer Phlogiston aufnehmen kann.

Phlogistieren heißt also einfach reduzieren und dephlogistieren bedeutet oxydieren. Dieses Begriff-System war weiter und allgemeiner anwendbar als dasjenige, welches dann Lavoisier vorschlug, denn Letzteres konnte nur noch mit Sauerstoff oxydieren, nicht aber mit Chlor, Schwefel oder anderen Dephlogistierungsmitteln. Es ist begreiflich, daß sich alte, weise Chemiker zur Zeit der französischen Revolution, wie *Cavendish* und *Pristley*, gegen diese Verengung der Begriffe wehrten und die Lehre von *Lavoisier* nicht akzeptieren wollten. Der Einwand von *Lavoisier*, mit dem er das Phlogiston lächerlich machte, indem er darauf hinwies, daß dieses ein negatives Gewicht haben müßte, war kein genügendes Argument um diese Herren umzustimmen. Man lese etwa nach, was *Pristley* in seinem letzten Opus betitelt: «The theory of phlogiston established», über die Verbrennung von Metallen mit Sauerstoff schreibt (5):

«On calcination the metals give out Phlogiston, whilst at the same time the calx absorbs water of fixed air, both produced by the phlogistication of air».

Pristley stellt sich also vor, daß das Phlogiston vom Metall auf den Sauerstoff übertritt, so wie wir heute sagen, daß Elektronen vom Metallatom auf das Sauerstoffatom übergehen; nach diesem ersten Schritt bleiben das dephlogistierte Metall und die phlogistierte Luft beisammen, was die bei der Verbrennung eintretende Gewichtsvermehrung erklärt, entsprechend unserer heutigen Vorstellung der Bildung des Metalloxidgitters aus den beim Elektronenübertritt entstehenden Ionen.

Erst 100 Jahre nach dem Tode der Phlogistontheorie haben die Begriffe Oxydieren und Reduzieren die allgemeine Bedeutung zurück erhalten, die sie im

18. Jahrhundert hatten. Oxydieren braucht ja nicht Reaktion mit Sauerstoff zu bedeuten und aus diesem Grunde schreiben wir das Wort ja auch mit y, obschon die Schreibweise für die Sauerstoffverbindungen vom früheren Oxyd zu Oxid gewechselt hat. Wie es diesbezügliche orthographische Fehler im modernen Schrifttum zeigen, haben viele heutige Chemiker diese Verhältnisse noch nicht begriffen.

3. Säuren und Basen

Dieser Vortrag soll sich ja aber mit der zweiten Klasse chemischer Prozesse befassen, denen wir uns nun zuwenden wollen. Die Oxydationszahl der verschiedenen Atome bleibt dabei konstant und es ändern deren Koordinationsverhältnisse, Der äußere Aspekt solcher Reaktionen kann sehr verschiedenartig sein. Die Neutralisation von Brönsted-Säuren mit Basen gehört hierher, da sich dabei die Koordinationsverhältnisse des Protons ändern. Bei Bildung und Zerfall von Metallkomplexen in Lösung ändert sich die Koordination des metallischen Zentralatoms; gewöhnlich handelt es sich um den Ersatz eines Liganden durch einen andern. Wir können aber auch die Substitution elektronegativer Gruppen an Nichtmetallatomen, wie B(III), C(IV), P(V), S(VI) usw. hierher zählen, z. B. hat Phosgen alle Merkmale einer starken Säure. Schließlich gehört auch die Bildung schwerlöslicher Niederschläge und die Umkehr dieser Reaktion zu den Vorgängen der Klasse II.

Um zu zeigen, daß diese so verschiedenartigen Prozesse als Neutralisation zwischen einer Säure und einer Base bezeichnet werden können, muß ich diese Begriffe nun definieren. Es kann sich nur um eine phänomenologische Definition handeln, da ja die kontroverse Frage nach der Natur der entstehenden oder sich lösenden Bindungen vermieden werden soll.

Robert Boyle, der mit seiner Definition des chemischen Elementbegriffes die Phlogistonepoche vorbereitete, hat auch genau angegeben, was man unter Säuren und Basen verstehen soll (3): «Säuren brausen auf mit Kreide, scheiden aus Schwefelleber-Lösungen Schwefel aus und machen Pflanzenfarbstoffe rot (Lackmus, Veilchenfarbstoff)». Eine Base wird als ein Stoff bezeichnet, der alle diese Eigenschaften der Säure aufhebt. Eine Base ist also eine Antisäure und eine Säure ist Antibase. Das ist die nützlichste Definition. Leicht lassen sich einige Stoffe finden, welche von allen Chemikern, gleichgültig welchen Alters und welcher Ausbildung, als Basen anerkannt werden, wie z. B. das fixe und das flüchtige Alkali der Alten, heute Alkalihydroxid und Ammoniak genannt. Nach *Boyle* müssen dann alle Stoffe, welche mit diesen Standardbasen reagieren, als Säuren bezeichnet werden. Dabei erhalten wir eine lange Liste von Säuren, deren Glieder dann wieder dazu dienen können, die Liste der Basen zu vervollständigen.

Wir wollen uns überlegen, wie wir das Eintreten einer Reaktion erkennen können. Am leichtesten gelingt es, wenn wir zum Nachweis von Säuren farbige Basen und zum Nachweis von Basen farbige Säuren benutzen, weil dann ein Farbwechsel eintritt. Schon *Boyle* erwähnt ja einige Pflanzenstoffe als Indi-

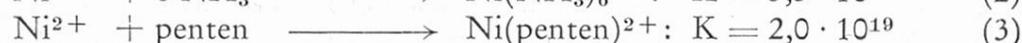
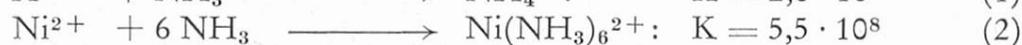
katoren. Seit Ende des letzten Jahrhunderts kennt man zusätzlich eine Fülle von künstlichen Indikatoren. Ganz unabhängig von den Lehrmeinungen verschiedener Epochen, werden Indikatoren als Erkennungsmittel für Säuren und Basen angeführt. Sie sind auch verwendbar zum Erkennen der Reaktion zwischen farblosen Stoffen, da man den Farbindikator mit einer farblosen Säure oder Base verdrängen, d. h. zum Umschlag bringen kann. Ein weiteres wichtiges Merkmal sind die katalytischen Eigenschaften von Säuren und Basen. Mit der Mutarotation der Saccharose hat z. B. *Svante Arrhenius* nachgewiesen, daß das Wasserstoffion der Träger der sauren Eigenschaften wässriger Lösungen ist (6). Auch dieses Merkmal ist verständlich aufgrund der allgemeinen Definition der Säuren als Antibasen und der Basen als Antisäuren: die an einer Säurekatalyse bzw. Basenkatalyse teilnehmenden Stoffe reagieren nämlich mit der katalysierenden Säure oder Base, aber dieser erste Reaktionsschritt löst dann einen weiteren Prozeß aus, durch welchen der Katalysator wieder regeneriert wird.

Aufgrund der Definition, daß alle Stoffe, welche mit Basen reagieren, Säuren genannt werden sollen, finden wir leicht, daß es nicht nur Protonsäuren gibt. Dies zeigte *G. N. Lewis* 1938 besonders eindrucklich, indem er demonstrierte, daß BCl_3 , SnCl_4 und AgClO_4 in aprotischen Lösungsmitteln mit Aminbasen unter Verwendung üblicher Säure-Base-Indikatoren scharf titriert werden können (7). Diese Metallverbindungen sind auch wirkungsvolle Katalysatoren für zahlreiche Reaktionen der organischen Chemie. Das hat zum Begriff der Lewis-Säuren geführt, zu denen man insbesondere wasserfreie Metallhalogenide rechnet. Nicht ohne weiteres können aber Metallsalze in wässriger Lösung als Lewis-Säuren bezeichnet werden. Solche Lösungen enthalten Metallaquoionen, welche zwar generell mit unserer Standardbase OH^- reagieren, doch hat die Reaktion, bei welcher über komplizierte Polynukleare das schwerlösliche Metallhydroxid entsteht, keineswegs den Aspekt einer Neutralisation. Metallaquoionen sind in erster Linie Protonendonatoren, da die koordinierten Wassermolekeln Protonen verlieren können, es sind also schwache Brönsted-Säuren. Aber auch wenn wir das H_2O der Aquohülle durch einen neuen Liganden ersetzen, was z. B. mit der Standardbase NH_3 oft gelingt, haben wir nicht den Eindruck, daß dabei eine Säure mit einer Base neutralisiert werde. Der Unterschied gegenüber dem Verhalten des wässrigen Wasserstoffions ist so auffallend, daß für mehr als ein halbes Jahrhundert die Meinung herrschte, nur dieses sei eine Säure, ja sogar der alleinige Träger der Eigenschaft, die man mit «sauer» bezeichnet.

4. Metallaquoionen als Säuren

Erst die komplexometrische Titration hat eindrucklich gezeigt, daß man auch Metallaquoionen scharf neutralisieren kann, wenn man ihnen die richtige Base anbietet und daß es Farbindikatoren gibt, welche den Äquivalenzpunkt solcher Neutralisationen durch einen scharfen Farbwechsel anzeigen. Metallaquoionen

unterscheiden sich in ihren aciden Eigenschaften nicht prinzipiell vom Wasserstoffion, sondern nur graduell. Das scheinbar so verschiedene Verhalten gegenüber den üblichen Basen rührt davon her, daß das Wasserstoffion nur eine einzige Basenmolekel bindet und die freie Enthalpie dieser Reaktion oft recht groß ist, während bei den Metallionen mehrere Koordinationsstellen abzusättigen sind, in sich gegenseitig überlappenden Reaktionen mit verhältnismäßig kleinen Gleichgewichtskonstanten. Den Aspekt des Neutralisiert-Werdens kann man aber auch bei den Metallionen erzeugen mit Basen, welche gleichzeitig mit mehreren Koordinationsstellen zu reagieren vermögen, also mit sog. Chelatliganden. Der Ersatz mehrerer unidentater Liganden durch einen entsprechenden multidentaten Chelatbildner hat eine Vereinfachung der Stöchiometrie der Reaktion zur Folge und zugleich eine gewaltige Zunahme der Stabilitätskonstanten des Adduktes. Als Beispiel sei die Komplexbildung des Ni(II)-ions mit Ammoniak (8) einerseits und mit dem Hexamin «penten» (siehe Tabelle 4, Formel VII) andererseits (9) aufgeführt:



Die Erscheinung der Neutralisation hat man immer dann, wenn am Äquivalenzpunkt sprunghafte und große Änderungen der Konzentration der Reaktanden eintreten. So zeigt Reaktion (1) einen großen pH-Sprung nicht aber Reaktion (2) einen entsprechenden pNi-Sprung, obschon die Gleichgewichtskonstanten von (1) und (2) von ähnlicher Größe sind. Dieser Unterschied von (1) und (2) wird dadurch bedingt, daß eine einzige NH_3 -Molekel von Ni^{2+} nur mit einer

kleinen Konstanten (durchschnittlich $\sqrt[6]{5,5 \cdot 10^8} = 2,8 \cdot 10^1$) gebunden wird. Hingegen ist Reaktion (3) wieder eine 1:1-Assoziation wie (1) und die sehr große Assoziationskonstante hat zur Folge, daß am Äquivalenzpunkt das pNi plötzlich um etwa 12 Einheiten ansteigt. Solche pM-Sprünge lassen sich durch Metallindikatoren anzeigen, welche den pH-Indikatoren entsprechen (10). Auch die Metallindikatoren sind Chelatbildner, nämlich Farbstoffmolekeln, welche dem Metallkation mehrere Ligandatome offerieren (11).

Vielleicht ist es von Interesse festzustellen, daß die Alkalimetrie bzw. Acidimetrie schon um die Mitte des 18. Jahrhunderts erfunden worden ist (12), die dazu analoge Komplexometrie aber erst 200 Jahre später (13).

In Tabelle 1 wird jede Änderung der Koordinationsverhältnisse als Säure-Base-Prozeß bezeichnet. Zu dieser Klasse müssen deshalb auch die Fällungsreaktionen gehören. Niederschläge entstehen immer dann, wenn wir zu der Lösung mit dem Metallkation einen Liganden hinzufügen, der mehr als ein einziges metallisches Zentrum bildet und dieses mehrere Liganden, so daß Vernetzung zu endlosen Verbänden eintritt. Fällungsprozesse werden natürlich bei der Gravimetrie ausgewertet. Sie können aber auch die Grundlage von maßanalytischen Verfahren sein, denn am Äquivalenzpunkt kommt es wieder zu sprunghaften Ver-

änderungen der Konzentration der Reaktanden, die sehr groß sein können. Gute Beispiele sind die argentometrischen Titrationsen.

Nachdem dargetan wurde, daß Metallaquoionen gewisse Indikatoren zum Farbumschlag bringen und die Reaktion mit gewissen Basen alle Merkmale von Neutralisationsprozessen zeigt, sei noch darauf hingewiesen, daß auch das dritte Merkmal typischer Säuren nicht fehlt, nämlich die katalytische Aktivität. Pflanzliche und tierische lebende Zellen machen vielfach Gebrauch von der Metallionenkatalyse in wässriger Lösung (14), während die Laboratoriumschemie bisher an diesen Möglichkeiten für die organische Synthese fast achtlos vorbeigegangen ist.

5. Theoretische Deutung von Acidität und Basizität

Ich habe die Begriffe Säure und Base bewußt phänomenologisch definiert. Nun wollen wir noch kurz auf die Vorstellungen eingehen, mit welchen man die Erscheinungen zu erklären versuchte. Für die Phlogistonepoche war es charakteristisch, gleichartiges Verhalten auf einen gemeinsamen Inhaltsstoff zurückzuführen. So wie man sich vorstellte, alle metallischen und verbrennlichen Stoffe würden Phlogiston enthalten, glaubte man auch, in allen sauren Stoffen sei dasselbe acide Prinzip — eine *Ursäure* — enthalten (3). Es ist interessant, das Schicksal der beiden Geschwister — Phlogiston und Ursäure — zu verfolgen. Das Phlogiston, von dem *Cavendish* dachte, er hätte es im Wasserstoff isoliert, verschwand mit dem Aufkommen von *Lavoisiers* Verbrennungslehre, also schon um 1800 aus der Gedankenwelt des Chemikers — obschon es ein stoffliches reduzierendes Prinzip gibt, nämlich Elektronen. Der Glaube an ein stoffliches acides Prinzip hat sich hingegen bis in unser Jahrhundert erhalten, obschon kein solches existiert. *Lavoisier* glaubte, daß alle aciden Stoffe *Sauerstoff* enthalten würden (3), eine Vorstellung, welcher dieses Element seinen Namen verdankt (Oxys: sauer). Nachdem man erkannt hatte, daß es auch Säuren ohne Sauerstoff gibt, wurde der Wasserstoff mit der Acidität in Verbindung gebracht. Nach *Liebig* (3) ist es *durch Metalle ersetzbarer Wasserstoff* (1836), nach *Arrhenius* (6) das *Wasserstoffion* (1889) und nach *Brönsted* (15) das *Proton* (1924). Protonendonatoren sind in der Tat besonders wichtige Säuren und der Protonkult (16), dem man lange Zeit ausschließlich huldigte, hatte entschieden eine gewisse Berechtigung.

Wie bereits erwähnt, gibt es aber auch eine Acidität, die nicht auf das Proton zurückzuführen ist (7). Diese Erkenntnis zeigt, daß nicht ein bestimmter Inhaltsstoff, also ein bestimmtes Element, für die beschriebenen Phänomene verantwortlich sein kann. Es ist bemerkenswert, daß dieser Gedanke schon früh auftauchte, denn ein Zeitgenosse von *Boyle*, der französische Arzt und Hugenotte *Lemery*, stellte sich vor, die Säuren enthielten *spitze Teilchen* und diejenigen der Basen hätten ein Loch, so daß bei der Neutralisation die Spitzen in die Poren eindringen können (3). Mehr als 100 Jahre später, als *Davy* zur Ueberzeugung gelangt war, daß das Chlor ein Element ist und also die starke Salzsäure keinen Sauerstoff enthält, kam er ebenfalls auf die Idee, daß die Acidität eventuell nicht

von einem bestimmten Element, sondern durch eine bestimmte *Konstellation* (Anordnung der kleinsten Teilchen) verursacht sein könnte (17). Aber dieser Gedanke wurde nicht populär, bis er nochmals 100 Jahre später von *Lewis* erneut propagiert wurde (7), indem er eine bestimmte Elektronenkonfiguration für das acide Verhalten verantwortlich machte, nämlich eine *Elektronenlücke*, ein sogenanntes *elektrophiles Atom*. Von dieser Vorstellung leiten sich die Ausdrücke *Acceptor* für Säure und *Donator* für Base ab. Wieder sind es also Elektronen, die der eine Reaktionspartner aufnimmt und der andere abgibt, aber es handelt sich nicht um eine Elektronenübertragung wie bei den Redoxprozessen, sondern die Elektronen gehören nach der Reaktion dem Acceptor und Donator gemeinsam an und bewerkstelligen die chemische Bindung zwischen ihnen.

Diese heute übliche elektronische Deutung hat mich nie ganz befriedigt, weil sie eine Behauptung enthält, die nicht zu beweisen ist. Ich glaube, daß die typischen Phänomene der Säure-Base-Reaktionen auch auftreten können, ohne daß sich dabei Elektronenpaarbindungen ausbilden. Wenn wir z. B. das Calciumion mit dem Anion der EDTA titrieren, so hat die Reaktion alle Merkmale einer typischen Neutralisation, die aber wahrscheinlich lediglich die Auswirkungen klassischer Coulomb-Kräfte sind. Dann entstehen aber keine neuen Elektronenpaarbindungen und es gibt deshalb auch kein Atom, das als Acceptor und keines, das als Donator fungiert. Wir sollten uns *Werner* zum Vorbild nehmen, indem wir bei den Begriffsbildungen Aussagen über die immer noch kontroverse Natur der chemischen Bindungen vermeiden. In Übereinstimmung damit könnten wir dann sagen: *Die Säure ist der positive und die Base der negative Reaktionspartner eines Koordinationsvorganges.*

6. Allgemeine und selektive Liganden

Stets sind bei der Koordination wohl gewöhnliche elektrostatische Kräfte zwischen dem positiven metallischen Zentralatom und den Liganden (Anionen oder Dipolmolekeln) im Spiel. Ebenso sicher ist es aber, daß oft auch kovalente Bindungen entstehen. Das zeigt die sog. Koordinations-Selektivität mit aller Deutlichkeit, denn die Auswahl, welche die verschiedenen metallischen Zentren unter den ihnen offerierten Liganden treffen, ist nicht nur eine Angelegenheit von Ladung und Radius der Reaktionspartner (18).

Elektrovalentes Verhalten zeigen die Liganden F^- und solche, welche über Sauerstoff koordinieren. Mit diesen steigt die Komplexstabilität mit Zunahme der Ladung des Metallions gewaltig an und sinkt ab mit anwachsendem Radius. F^- und O-Donoren sind deshalb *allgemeine* Liganden, die sich an sämtliche Metallkationen mehr oder weniger stark koordinieren.

Kovalentes Verhalten. Die schweren Halogenionen Cl^- , Br^- , I^- , Liganden die über Schwefel koordinieren, N-Donoren, P-Donoren und Cyanid sind selektive Liganden. Sie vermögen in wässriger Lösung d^0 -Kationen [Kationen mit Edelgaskonfiguration $Be(II)$, $Mg(II)$, $Ca(II)$, $Sr(II)$, $Ba(II)$, $Al(III)$, $Sc(III)$,

Y(III), Lanthanide, Ti(IV), Zr(IV), Hf(IV), Th(IV), Nb(V), Ta(V)] überhaupt nicht zu binden. Hingegen bilden sich stabile Assoziate mit d^{10} -Zentren [Cu(I), Ag(I), Au(I), Zn(II), Cd(II), Hg(II), Ga(III), In(III), Tl(III), Sn(IV), As(V), Sb(V)] und zahlreichen Kationen der Uebergangsmetalle [Mn(II), Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II), Pd(II), Pt(II), Pt(IV), Au(III)]. Für die Stabilität dieser Assoziate sind Ladung und Radius der Reaktanden nicht ausschlaggebend. Von dominanter Wichtigkeit sind hingegen das Ionisationspotential des Metalls (je edler das Metall, um so stabiler sind dessen Komplexe mit selektiven Liganden) und die Elektronegativität des Ligandelementes (je kleiner die Elektronegativität, um so stabiler sind die Komplexe).

Dieses Wissen um die Koordinations-Selektivität ist eine große Hilfe zum Verständnis der analytischen Reagenzien, die im Verlauf der Jahrhunderte zum Nachweis und zur Bestimmung metallischer Elemente gedient haben.

7. Analytische Reagenzien

In Tabelle 2 sind die alten anorganischen Reagenzien aufgeführt, die viele von Ihnen noch in den Anfängersemestern, z. B. beim Nacharbeiten des klassischen *Fresenius'schen* Trennungsganges (19), kennen gelernt haben.

Tabelle 2 Anorganische Reagenzien

Allgemeine:	OH^- ;	CO_3^{2-} ;	$\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$;	PO_4^{3-} ;	SO_4^{2-}
Selektive:	Cl^- ;	H_2S , HS^- , S^{2-} ;	NH_3 ;	CN^-	

Dieser beginnt mit HCl, welche lediglich die edelsten Metalle Ag(I) und Hg(I) ausfällt. Dann führt man H_2S ein, wobei eine Gruppe von etwas weniger weichen (20) Kationen ausfällt. Jetzt macht man ammoniakalisch und gibt erneut Sulfid hinzu, was die letzten Uebergangsmetalle niederschlägt. In der Lösung bleiben dann nur noch d^0 -Kationen, welche mit Reagenzien, die über Sauerstoff koordinieren, nachzuweisen sind.

Eine gewaltige Verbesserung wurde in der Metallanalyse mit der Einführung organischer Reagenzien erreicht. Es handelt sich ohne Ausnahme um Chelatbildner, d. h. Molekeln, die mehr als eine einzige Koordinationsstelle am metallischen Zentralatom besetzen. Bei deren Ligandatomen handelt es sich fast immer um O oder/und N. Viel seltener sind die Schwefel-Donoren. Tabelle 3 vermittelt einen Ueberblick über die Ligandgruppen solcher organischer Komplexbildner.

Es ist zweckmäßig, die organischen Reagenzien in drei Gruppen einzuteilen: Sequestrierungsmittel, Fällungs- bzw. Extraktionsmittel und Reagenzien, welche Farbeffekte erzeugen.

Sequestrierungsmittel sollen sehr stabile Komplexe hoher Wasserlöslichkeit liefern. Mit ihnen kann man Metallkationen mit Beschlag belegen (sequestrieren), so daß sie nachher nicht mehr stören (z. B. Calcium beim Waschprozeß). Analytisch

Tabelle 3 Ligandgruppen organischer Reagenzien

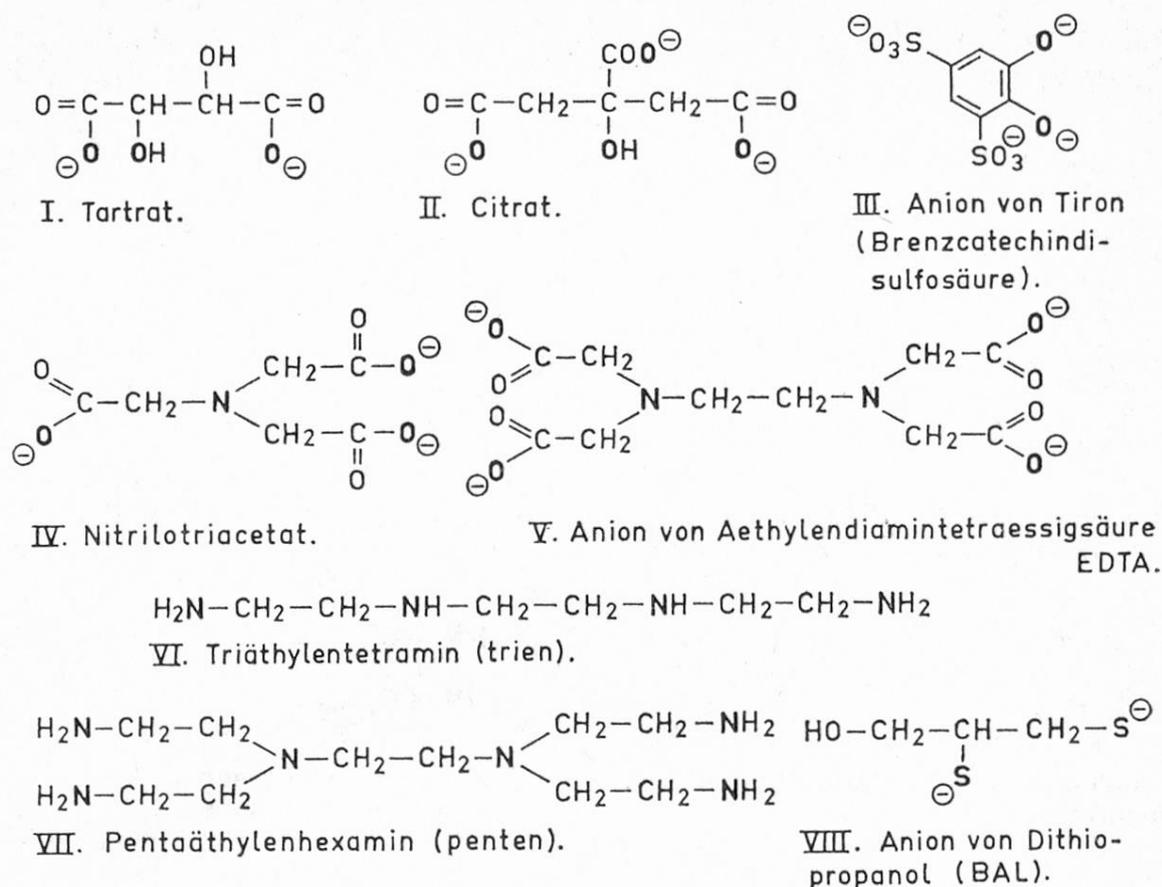
N als Ligandatom	O als Ligandatom	S als Ligandatom
$R-NH_2$, R_2NH , R_3N	R_2O , $R-OH$ und $R-O^\ominus$	R_2S , $R-SH$ und $R-S^\ominus$
$R_2C=NH$, $R_2C=NR$	$R_2C=O$	$R_2C=S$, + $\begin{matrix} R_2N^\oplus \\ \diagup \\ C-S^\ominus \\ \diagdown \\ R_2N \end{matrix}$
$R-N=O$ $R_2C=N-OH$ und $R_2C=N-O^\ominus$	$R-C \begin{matrix} \diagup O \\ \diagdown OH \end{matrix}$ und $R-C \begin{matrix} \diagup O \\ \diagdown O^\ominus \end{matrix}$	$R-C \begin{matrix} \diagup SH \\ \diagdown O \end{matrix}$ und $R-C \begin{matrix} \diagup S^\ominus \\ \diagdown O \end{matrix}$
$R-N=N-R$	$R-N=O$ bzw. $R_2C=N-OH$ und $R_2C=N-O^\ominus$	$R-C \begin{matrix} \diagup SH \\ \diagdown S \end{matrix}$ und $R-C \begin{matrix} \diagup S^\ominus \\ \diagdown S \end{matrix}$
	$R-NO_2$, $R-SO_3^\ominus$, $R-PO_3^\ominus$ $R-AsO_3^\ominus$	$RO-C \begin{matrix} \diagup S^\ominus \\ \diagdown S \end{matrix}$
		$R_2N^\oplus=C \begin{matrix} \diagup S^\ominus \\ \diagdown S^\ominus \end{matrix}$

können Sie zum Maskieren gewisser Metalle dienen, wenn daneben andere bestimmt werden sollen. Einige der in Tabelle 4 aufgeführten Stoffe kann man auch in Form einer Maßlösung bei komplexometrischen Titrations verwenden. Alle sind multidentate Chelatbildner und die bei der Bindung des Metallions entstehenden Ringe sind 5- oder 6gliedrig. Die durch Chelierung zu erreichende Stabilitäts-erhöhung der Komplexe ist bei solchen Ringen am größten. Kleinere Chelatringe sind gespannt und bei größeren ist der Chelateffekt wiederum klein, weil der organische Ligand bei der Koordination viel Konformationsentropie verliert. Die Wasserlöslichkeit der Komplexe wird durch deren Ladung gewährleistet.

Tartrat, Citrat und Brenzcatechindisulfonat koordinieren nur über Sauerstoff und sind deshalb bei jedem mehrwertigen Metallkation effektiv. Auch die Anionen der Aminopolycarboxylate IV und V sind allgemeine Komplexbildner, obschon unter deren Ligandatomen auch N vorkommt. Diese Stickstoffatome ermöglichen einen sterisch besonders günstigen Bau, der die gleichzeitige spannungsfreie Koordination von 4 (bei der NTA) und 6 (EDTA) Ligandatomen erlaubt. Die beiden angeführten Polyamine VI und VII sind als reine N-Donoren viel selektiver als I bis V und reagieren z. B. nicht mit d^0 -Kationen. Besonders selektiv ist der S-Donor VIII, der sehr stabile Assoziate mit den Metallen bildet, die mit H_2S als schwerlösliche Sulfide ausfallen.

Fällungs- und Extraktionsmittel erzeugen mit Metallionen in wässriger Lösung Niederschläge, welche man meistens in organischen Lösungsmitteln lösen kann. Diese Fällungen sind aus einem anderen Grunde schwerlöslich als die mit anorganischen Reagenzien (Tabelle 2) entstehenden Niederschläge. In den schwerlöslichen Chloriden, Sulfiden, Hydroxiden, Karbonaten und Phosphaten fungiert der basische Ligand als Brücke, welcher zwei oder mehrere Metallionen miteinander zu endlosen Verbänden verknüpft. Demgegenüber sind die mit organischen Fällungsmitteln erzeugten Niederschläge molekular gebaut. Es handelt sich

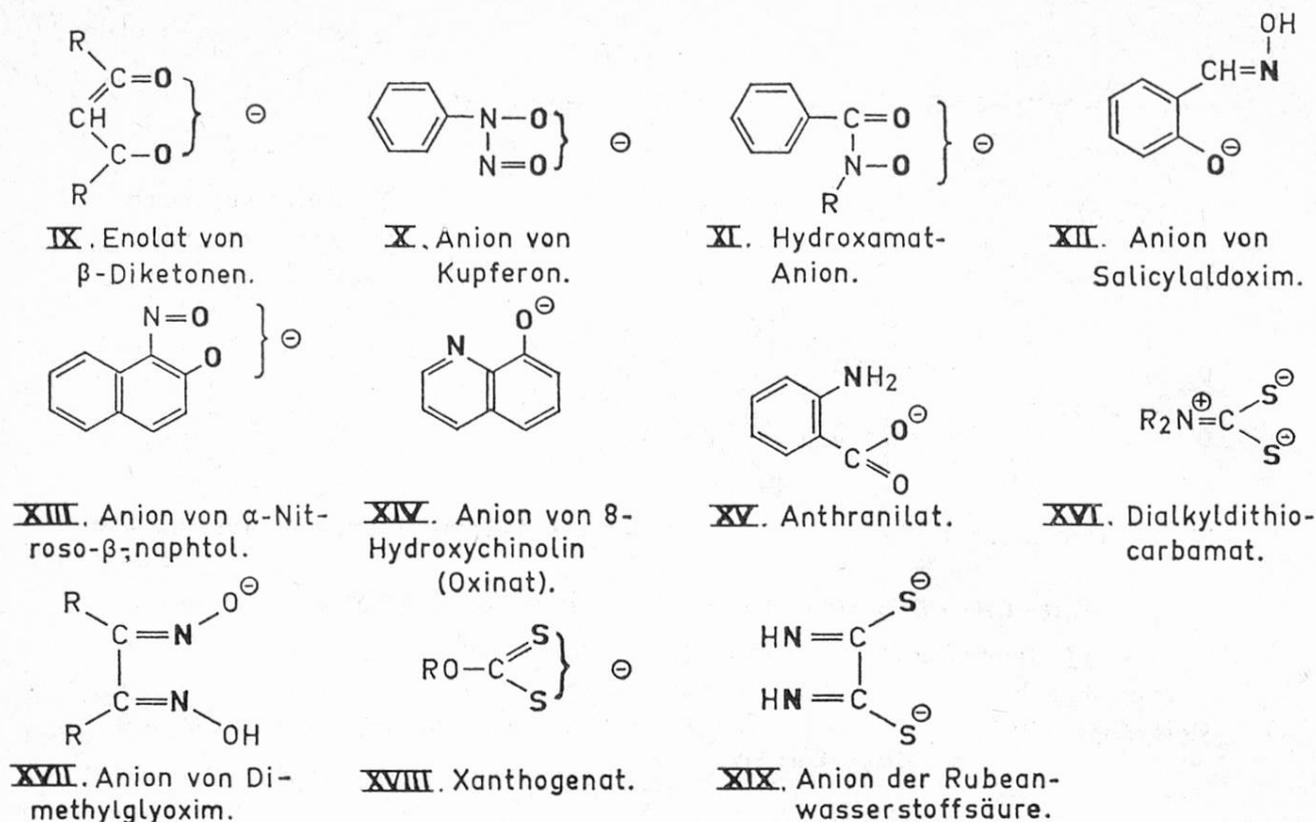
Tabelle 4 Sequestrierungsmittel



um mononukleare Chelatkomplexe, welche aus demselben Grunde schwerlöslich sind, wie organische Verbindungen ohne hydrophile Gruppen. Daß dem so ist, kann man daran erkennen, daß die Fällungen oft in organischen Lösungsmitteln löslich sind. Organische Fällungsmittel sind deshalb oft zugleich Extraktionsmittel für Metalle. Für die Gravimetrie haben diese Reagenzien den Vorzug hoher Molekulargewichte des Wägegutes und den gewaltigen Vorteil, besser stöchiometrisch zusammengesetzt zu sein als die endlosen Netzverbände gefällter Metallsulfide oder -hydroxide.

Da diese Komplexe ungeladen sein sollen, muß der Chelatbildner sowohl der Koordinationszahl des Metallions genügen, als auch dessen Ladung kompensieren. Wie Tabelle 5 zeigt, verhält sich die Zahl der vorhandenen Ligandatome (Zähnigkeit) zur Ladung des Komplexbildners meistens wie 2:1. Zwei Mole kompensieren also die Ladung zweiwertiger Metallionen und sättigen vier Koordinationsstellen ab, so daß meistens (bei Koordinationszahl 6) noch zwei H_2O am Metall koordiniert bleiben und in den Niederschlag gehen. Für Metallionen der Oxydationsstufe III werden drei Mole des Reagenzes gebunden, wobei alle 6 Koordinationsstellen des metallischen Zentrums besetzt und dessen Ladung kompensiert wird. Das Verhältnis Zähigkeit: Ladung = 2:1 wird bei den Enolaten von Diketonen (IX), dem Anion des Kupferons (X), demjenigen der Hydroxamsäure (XI) und des α -Nitroso- β -naphthols (XIII) dadurch erreicht, daß je zwei Sauerstoffe der mesomeren Partikel gemeinsam die einfache anionische Ladung

Tabelle 5 Fällungs- und Extraktionsmittel

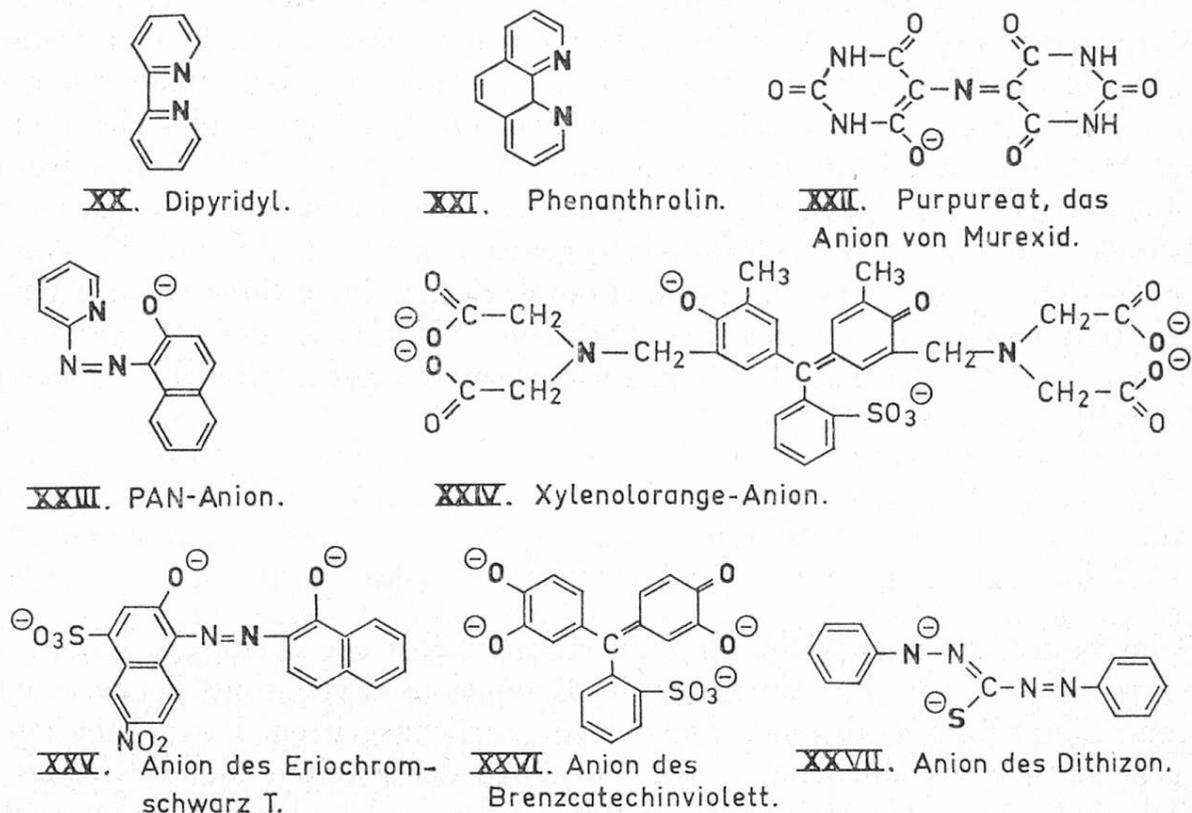


tragen. Dasselbe Verhältnis kann auch mit einem anionischen Sauerstoff und einem N-Donoratom erreicht werden (bei XII, XIV, XV). Die Reagenzien IX—XV sind als O- und N-Donoren sehr allgemein anwendbar. Andererseits reagiert Dimethylglyoxim sehr selektiv. Die deprotonierte Molekel (XVII) koordiniert über Stickstoff und die vorhandenen Doppelbindungen sorgen dafür, daß ein starrer, planarer Chelat-5-Ring entsteht, der in derselben Ebene liegt, wie der Chelatring des zweiten koordinierten Liganden, so daß sich mit den beiden auf der Molekel verbleibenden Protonen Wasserstoffbrücken ausbilden können. Derart kommt die Selektivität für II-wertige d^8 -Kationen zustande, die bevorzugt planar koordinieren [Ni(II), Pd(II), Pt(II)]. Sehr selektiv verhalten sich erwartungsgemäß auch die S-Donoren XVI, XVIII und XIX, indem sie nur mit typischen Sulfidbildnern reagieren.

Metallindikatoren erzeugen mit Metallen Farbeffekte. Dipyridyl (XX) und Phenanthrolin (XXI) sind schon um die Jahrhundertwende in die Analytik eingeführt worden (21). Es handelt sich um farblose Basen, die in wässrigen Säuren löslich sind und sehr selektiv nur gerade mit Fe(II) und Cu(I) tief rote bzw. gelbe Färbungen erzeugen. Daß diese N-Donoren mit diesem d^6 - bzw. d^{10} -Ion Komplexe geben, ist nicht verwunderlich. Das tun aber natürlich auch zahlreiche andere Uebergangsmetalle, d^9 und andere d^{10} -Ionen. Selektiv ist lediglich die auftretende Färbung, deren Ursache ein «charge transfer» vom Metallatom auf die π^* -Orbitale des Aromaten ist. Nur reduzierende metallische Zentralionen können also den Farbeffekt zeigen. Analog verhält sich das in Tabelle 4 aufgeführte

Tiron (III), das ebenfalls mit sehr vielen Metallionen reagiert, aber nur mit einigen wenigen von diesen tief gefärbte Komplexe liefert, nämlich mit den oxydierend wirkenden Fe(III) und Ti(IV) (welches zu Ti(III) reduzierbar ist), was der Name des Reagenzes (Ti-iron) zum Ausdruck bringt. Wiederum ist die Lichtabsorption auf einen «charge transfer» zurückzuführen, diesmal vom π -Orbitalsystem des reduzierend wirkenden Diphenols auf die d-Orbitale des metallischen Zentrums.

Tabelle 6 Metallindikatoren



Bei den Verbindungen XXII bis XXVII der Tabelle 6 handelt es sich um Farbstoffe. Diese Liganden sind also schon vor der Koordination an das Metall gefärbt und die Komplexbildung bewirkt lediglich einen Farbwechsel. Man beachte, daß auch alle diese Liganden multidentat sind. Die Stabilität der entstehenden Komplexe kann nur dadurch genügend groß gemacht werden, daß man die Farbstoffmolekel mit mehreren Ligandatomen ausrüstet (in den Formeln der Tabellen 4, 5, 6 jeweils fett gedruckt). Pan (XXII) und Erio T (XXV) sind Beispiele von Azofarbstoffen, unter denen es Hunderte von Metallindikatoren gibt. Stets wird bei der Komplexbildung eines der beiden N-Atome der Azogruppe koordiniert und daneben noch der benachbarte Phenolatsauerstoff oder Pyridinstickstoff, so daß 5- und 6gliedrige Chelatringe entstehen (22). Auch die Triphenylmethanfarbstoffe XXIV und XXVI sind so gebaut, daß kleine Chelatringe entstehen können. Brenzcatechinviolett XXVI ist ein 1,2-Diphenol wie Tiron (III), die Färbung rührt aber diesmal vom über die ganze Molekel ausge-

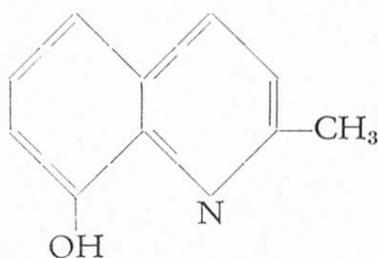
dehnten π -Elektronensystem her und kann beeinflusst werden durch Protonierung oder Metallierung der Phenolatsauerstoffe. Das Xylenolorange (XXIV) zeigt, daß man bekannte pH-Indikatoren dadurch in Metallindikatoren verwandeln kann, daß man die Molekel mit Iminodiacetatgruppen ausrüstet (23), welches sehr allgemeine Komplexbildner sind (wie EDTA). Das Metallion wird dabei vom Imino-Stickstoff und den Sauerstoffatomen der Carboxylgruppen festgehalten und nimmt sich zugleich eine auxochrome Gruppe des Farbstoffs (in XXIV das Phenolat-O) als Ligandatome, was dessen π -Elektorensystem und damit die Lichtabsorption beeinflusst. Anhand des Murexides (XXII) wurde erstmals der Begriff «Metallindikator» geprägt (24). Unerwartet ist der Befund, daß die Farbe des Purpureates sogar mit Alkaliionen beeinflusst werden kann. Die Lichtabsorption der Metall-Murexid-Komplexe erwies sich als praktisch unabhängig von ihrer Stabilität, spricht aber sehr empfindlich auf den Ionenradius des komplexierten Metallions an. Es zeigt sich (25), daß die in Formel XXII fett gedruckten drei Ligandatome nur dann gleichzeitig koordiniert werden können, wenn man die beiden planaren Barbiturylgruppen gegeneinander verdreht und das Ausmaß dieser Torsion hängt vom Ionenradius komplexierten Metallions ab und bedingt die Lichtabsorption des Systems. Das Dithizon (XXVII) ist der einzige S-Donor unter den Liganden der Tabelle 6 und spricht generell auf alle Sulfidbildner unter den Metallkationen an (26).

8. Schluß

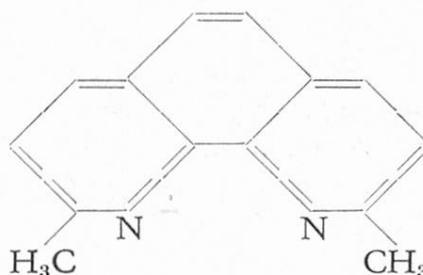
Beim Bestreben, einen Ueberblick zu erhalten über die chemische Reaktivität, haben wir auf die uralte Einteilung in Reduktions-Oxydations-Prozesse einerseits und Säure-Base-Reaktionen andererseits zurückgegriffen. Dann habe ich Ihnen gezeigt, wie verschiedenartig die Vorgänge der zweiten dieser Klassen tatsächlich sind. Die große Mehrzahl der Reaktionen, welche heute für den analytischen Nachweis und die quantitative Bestimmung von metallischen Elementen dienen, gehören zu diesen «Neutralisationen». Darauf bauen sich nicht nur Titrierverfahren auf, sondern auch graphimetrische und photometrische Bestimmungsmethoden. Für die Erfassung kleinster Metallmengen in Wasser — ein heute sehr aktuelles Problem — sind Extraktionsmethoden besonders wichtig. An einigen ausgewählten Beispielen wollte ich Ihnen zeigen, wie man systematisch Reagenzien für solche Verfahren entwickeln kann.

Zum Schluß wollen wir fragen, ob die Entwicklung analytischer Reagenzien heute abgeschlossen ist? Als Antwort möchte ich der Meinung Ausdruck geben, daß man ohne Zweifel noch wesentlich bessere Titrationsmittel, Metallindikatoren, Fällungsmittel und Extraktionsmittel finden könnte. Erwünscht wären Reagenzien größerer Selektivität oder sogar Spezifität, mit denen man aus einem beliebig wilden Gemisch das zu bestimmende Element ohne vorangehende Trennoperationen erfassen könnte. Größere Selektivität könnte man erstens durch den Einbau besonderer selektiver Ligandatome in die Molekel des organischen Rea-

genzes erzielen. Bisher verwendet man ja fast ausschließlich O- und N-Donoren und der viel selektivere Schwefel wird nur selten benutzt und Phosphin-P ist überhaupt noch nie in analytische Reagenzien eingebaut worden. Weiter besteht aber auch die Möglichkeit, größere Selektivität durch einen zweckmäßigen sterischen Bau der Reagenzmolekel zu erreichen. Die Verbindungen XXVIII und XXIX sind Beispiele, die zeigen, daß durch die Einführung von Methylgruppen die alten Reagenzien Oxychinolin und Phenanthrolin zu einem selektiveren Verhalten veranlaßt werden können.



XXVIII. Reagiert nicht mit Al^{3+}



XXIX. Reagiert nicht mit Fe^{2+} ,
aber mit Cu^+ .

Man kann sich aber auch eigentlich «maßgeschneiderte» Molekeln denken, die nur gerade für die Koordinationsgeometrie und Größe eines bestimmten Metallkations passen und deshalb sehr spezifische Reagenzien wären. An einer solchen Entwicklung neuer analytischer Reagenzien zu arbeiten, es würde sich um keineswegs einfache Synthesen handeln, ist aber offenbar heute wenig attraktiv. Viel anziehender ist es, mit den modernen Instrumenten zu spielen in der Hoffnung, mit diesen die bestehenden Probleme zu lösen. Aber es dürfte doch ganz gut sein, sich der Möglichkeiten zu erinnern, welche der Entwicklung neuer chemischer Methoden noch immer offenstehen.

Summary

During the 18th century two classes of chemical processes were believed to exist: reactions involving phlogiston and acid-base interactions. This classification is still useful, phlogistication and dephlogistication being equivalent to reduction and oxidation and reactions involving changes in coordination having the character of neutralisations between acids and bases. An acid is the positive and a base the negative reactant of a coordination process.

The majority of reactions used in inorganic analysis belongs to the second class. The reagents used in old times were almost exclusively precipitating agents. Among the modern organic reagents we find, in addition to the precipitating agents, sequestering agents, extracting agents and indicators responding to $\text{pM} = -\log [\text{M}^{n+}]$ (equivalent to the classical indicators which respond to pH). Selectivity is brought about by taking advantage of the coordination characteristics (electrovalent and covalent behaviour) and improved by meeting the steric requirements.

Literatur

1. *Schwarzenbach G.*: «Alfred Werner and his accomplishments» *Helv. Chim. Acta Fasc. Extraord.* Alfred Werner, S. 38, Birkhäuser Verlag, Basel 1967.
2. *Werner A.*: *Z. anorg. und allg. Chemie* **3**, 267 (1893).
3. *Kopp H.*: *Geschichte der Chemie* (vier Bände), Braunschweig 1884.
4. *Ramsay W.*: «The electron as an element», *J. chem. Soc.* **93**, 774 (1908).
5. *Partington J. R.*: «A history of chemistry» Vol. III. McMillan & Co., London 1964.
6. *Arrhenius S.*: *Z. physikal. Chem.* **4**, 226 (1889).
7. *Lewis G. N.*: *J. Franklin Inst.* **226**, 293 (1938).
8. *Bjerrum J.*: «Metal ammine formation in aqueous solution». Thesis 1941 reprinted 1957, P. Haase & Son, Copenhagen.
9. *Schwarzenbach G. and Moser P.*: *Helv. Chim. Acta* **36**, 581 (1953).
10. *Schwarzenbach G. und Gysling H.*: *Helv. Chim. Acta* **32**, 1314, 1484 (1949).
11. *Schwarzenbach G.*: *Helv. Chim. Acta* **37**, 113 (1954).
12. *Szabadvary F.*: «Geschichte der analytischen Chemie». Verlag Vieweg, Braunschweig 1966.
13. *Schwarzenbach G.*: «Die komplexometrische Titration», Verlag Enke, Stuttgart 1955, 5. Auflage herausgegeben mit H. Flaschka, 1965.
14. *Dennard A. E. und Williams R. J. P.*: «Transition metal ions as reagents in metalloenzymes» in R. L. Carlin: «Transition metal chemistry» Vol. 2. Marcel Dekker, New York 1966.
15. *Brönsted J. N.*: *Rec. Trav. chim. Pays-Bas* **42**, 718 (1923).
16. *Bell R. P.*: «The Proton in Chemistry». Methuen & Co. Ltd. 1959.
17. Erwähnt im Buch des Zitates 16.
18. *Schwarzenbach G.*: *Chimia* **27**, 1 (1973).
19. *Treadwell W. D.*: «Tabellen zur qualitativen Analyse».
20. *Pearson R. G.*: *J. Amer. chem. Soc.* **85**, 3533 (1963).
21. *Blau F.*: *Monatsh. Chemie* **19**, 647 (1898).
22. *Schwarzenbach G. und Biedermann W.*: *Helv. Chim. Acta* **31**, 678 (1948).
23. *Schwarzenbach G., Anderegg G. und Sallmann R.*: *Helv. Chim. Acta* **35**, 1794 (1952).
Anderegg G., Flaschka H., Sallmann R. und Schwarzenbach G.: *Helv. Chim. Acta* **37**, 113 (1954).
24. *Schwarzenbach G. und Gysling H.*: *Helv. Chim. Acta* **32**, 1314 (1949).
25. *Bürgi H. B., Djuric S., Dobler M. und Dunitz J. D.*: *Helv. Chim. Acta* **55**, 1771 (1972).
26. *Iwantscheff G.*: «Das Dithizon und seine Anwendung in der Analyse», Verlag Chemie, Weinheim 1958.

L'analyse des arômes par chromatographie en phase gazeuse

En préparant cette conférence, la première difficulté à laquelle je me suis heurté réside déjà dans le titre. Que veut dire «arôme»? Une définition bien précise nous manque. Dans le contexte du titre, cependant, le sujet à traiter est compréhensible. Dans le langage courant, le mot arôme désigne la propriété organoleptique de certaines matières (café, vin, etc.); dans le langage technique, il désigne l'odeur en général qui émane d'un mélange complexe. L'arôme est donc engendré par l'ensemble des substances volatiles du corps considéré. Pour connaître l'effet, c-à-d. l'odeur (ou arôme, fumet, fragrance, etc.), on doit par conséquent connaître les substances qui en sont la cause. La première opération nécessaire est donc une extraction de ces substances. L'extrait obtenu est toujours un mélange très complexe.

On va ainsi parler de l'analyse par chromatographie en phase gazeuse des parties volatiles de ce mélange complexe responsable de l'odeur. Ce mélange provient, soit des plantes, soit des animaux; il peut subir ou non un après-traitement; il est fermenté ou distillé d'une solution aqueuse acide. Mon intention n'est point d'entrer dans ces détails ou de donner de nouvelles définitions. Je propose de vous décrire comment on analyse un mélange complexe et volatile en prenant comme exemple un produit naturel.

La méthode d'analyse varie selon le but à atteindre; voici un essai de classification d'après le but:

but:

1. connaissance de la composition
2. connaissance d'un ou de plusieurs composants, porteurs d'une propriété précise (odeur, goût, etc.)
3. contrôle de qualité, dépistage de falsification, altération, etc.

atteint par:

- analyse complète
- enrichissement et analyse complète de la fraction obtenue
- a) analyse préalable, qui facilite l'évaluation du chromatogramme
 - b) évaluation statistique, corrélation empirique entre qualité et chromatogramme. Connaissance d'un chromatogramme «normal» et la variance naturelle.

Le premier but cité est naturellement le plus étendu et sert de base pour répondre aux questions détaillées ou spécifiques.

L'analyse «complète» ne répond parfois pas aux exigences, c-à-d. qu'on ne décèle pas de composants «importants», à savoir importants du point de vue

technologique pour la reconstitution synthétique de l'huile. Dans ce cas, une deuxième analyse avec un but précis est nécessaire, mais elle est facilitée du fait qu'on connaît la partie principale de l'essence.

Par la suite, je décrirai une analyse complète, avec l'exemple de notre première analyse: l'analyse de l'huile essentielle de la pelure de mandarine (1). La méthode décrite peut s'appliquer *mutatis mutandis* pour tout autre mélange.

Pour une analyse complète, le travail analytique se déroule en quatre étapes:

1. récolte de l'échantillon à analyser
2. préparation de l'huile
3. analyse de l'huile par chromatographie en phase gazeuse et isolation des composants
4. identification des composants.

Comme déjà dit, je suppose ici que l'échantillon est déjà récolté. Il faut cependant que l'analyste connaisse la méthode de récolte, car celle-ci peut donner des renseignements importants concernant la stabilité des composants. A titre d'exemple, l'huile essentielle de la pelure de lime (2) est récoltée en distillant le fruit entier par vapeur d'eau. Pendant l'isolement, l'huile essentielle est ainsi en contact avec le jus de fruit à 100 ° C, ce qui équivaut au traitement de l'huile par une solution chaude d'acide citrique. Il est évident que l'huile récoltée ne contiendra plus de composants peu stables. L'huile de lime peut donc être analysée sans précaution particulière. L'huile de mandarine, par contre, est fabriquée par pression de la pelure à température ambiante; par conséquent, l'huile du commerce contiendra tous les composants présents à l'origine dans la pelure de ce fruit.

L'huile récoltée est encore un mélange trop complexe pour l'analyse. On essaie donc de la subdiviser en groupes, en utilisant une propriété bien déterminée d'un groupe de composants; on extrait par exemple les acides avec la solution d'une base. Dans cet exemple donc, la propriété en question est la présence d'un proton acide.

Dans l'analyse classique des années 1900—1950, le mélange était tout d'abord divisé en extraits acide, phénolique, basique et «neutre». En général, la partie neutre est la plus importante de l'huile (ordre de grandeur: 60—100 %). Pour la subdiviser, on a recherché des réactifs qui transforment certains groupes de composants de la partie neutre, soit en acides, soit en bases, ou encore pour les rendre solubles dans l'eau. C'est ainsi qu'on a préparé l'ester phthalique acide des alcools, des dérivés solubles de cétones, etc.

Aujourd'hui, on n'utilise plus les réactifs pour la subdivision de la partie neutre car ils sont trop agressifs et provoquent une altération des composants délicats. Cependant, pour l'isolation non-destructive de la partie neutre de l'huile, on a retenu, parmi les méthodes classiques l'extraction avec des solutions acide et basique, méthode qui semble ne pas causer d'altération si on travaille à basse température (0 ° C). Par contre, pour la subdivision de la partie neutre, on n'est pas encore à même de donner une recette générale. A notre avis, la méthode la plus prometteuse sera l'extraction à contre-courant entre des solvants bien choisis.

La paire pentane/(alcool éthylique 80 % eau 20 %), par exemple, permet la subdivision en deux groupes. Le premier groupe est constitué par des hydrocarbures, le second par des substances avec des groupes fonctionnels. Dans l'exemple choisi pour ce travail, nous décrirons une autre possibilité en utilisant la chromatographie par déplacement d'une colonne remplie d'un adsorbant partiellement désactivé.

L'analyse

Le déroulement de l'analyse est démontré par le schéma de la figure 1.

1. Préparation de l'huile

La préparation de l'essence pour l'analyse par chromatographie en phase gazeuse consiste en

1. séparation des parties volatiles au point d'ébullition, en dessous d'env. 110 ° C
2. séparation des parties phénolique, acide et basique par des méthodes classiques, c-à-d. par extraction avec des solutions aqueuses de carbonate de potas-

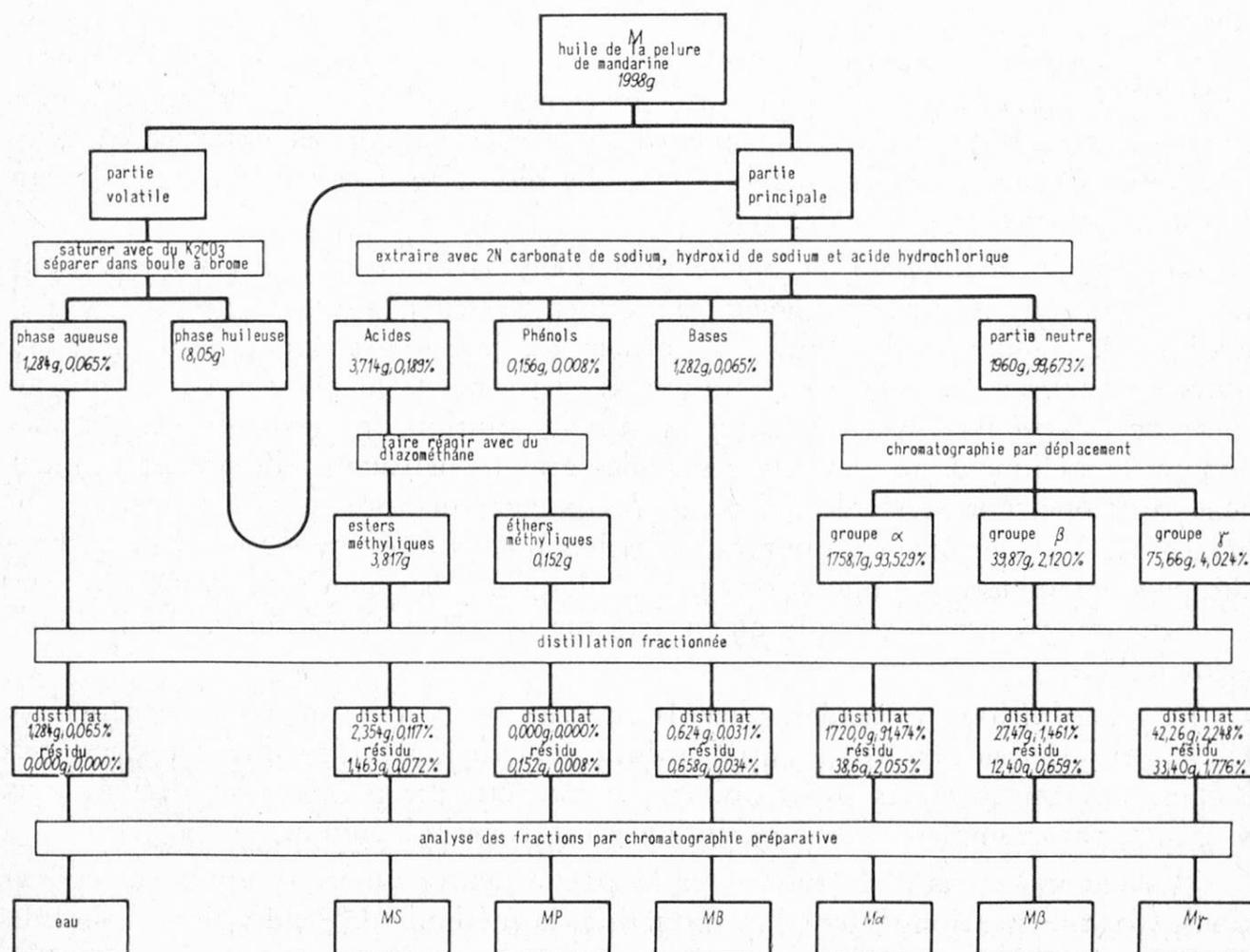


Figure 1. Schéma du déroulement de l'analyse de l'huile essentielle de la pelure de mandarine (reproduit avec l'autorisation de Helv. [1]).

sium (acides), d'hydroxide de sodium (phénols) et de l'acide hydrochlorique (bases)

3. subdivision de la partie neutre.

La séparation préalable des substances volatiles est une opération délicate. Cependant, elle est indispensable pour plusieurs raisons: les substances volatiles sont souvent solubles dans l'eau, donc on pourrait les retrouver dans les solutions aqueuses de la seconde opération, — les substances volatiles sont en général de très faible teneur, donc un enrichissement est nécessaire, — dans toutes les opérations qui suivent, l'huile sera traitée par des solvants dont l'impureté pourrait apparaître comme un composant de l'huile, — finalement, la détermination de la teneur de l'eau est seulement possible à partir de l'huile originale.

Pour effectuer l'opération, on place l'essence dans un ballon muni d'une colonne Vigreux, et on chauffe sous vide poussé jusqu'au point d'ébullition. Les composants volatiles sont retenus par deux trappes, la première refroidie par de la neige carbonique, la seconde par de l'air liquide. L'opération doit être exécutée aussi rapidement que possible, en réalisant que des huiles complètes naturelles sont en général faiblement acides.

Le contenu des trappes se partage habituellement en deux phases; une phase aqueuse et une huile. Cette séparation doit être complétée en saturant la phase aqueuse avec du carbonate de potassium. La phase aqueuse contient finalement des sels des acides volatiles et de l'eau provenant de l'huile. L'huile volatile doit être redistillée, soit sous pression normale, soit sous 12 Torr et partagée en deux fractions, la première jusqu'au PE 110° C. Le résidu au-dessus de PE 110° C sera rendu à la partie principale de l'huile.

On extrait maintenant la partie principale par la méthode classique. Pour cette opération, il est avantageux de diluer l'essence avec de l'éther, ce qui diminue la tendance de l'huile à former de la mousse lorsqu'on l'agite au cours de l'extraction. Même en solution, il se forme de la mousse avant tout au cours de la première extraction. En agitant la solution de l'essence avec du carbonate de sodium dilué, des sels des acides gras (constituants du savon) peuvent engendrer une mousse stable qui ne se désagrègera qu'après plusieurs heures. On peut aider à la détruire en ajoutant de petites quantités de méthanol. Une recherche pour remplacer ces opérations par d'autres moyens serait de grande valeur. On peut imaginer par exemple qu'on effectue la même opération par des échangeurs d'ions.

La régénération des acides, phénols et bases de la solution aqueuse peut être facilement effectuée en extrayant les solutions acidifiées (ou rendues basiques) par l'éther. Les acides et les bases doivent encore être transformés en dérivés plus volatiles, par exemple en esters méthyliques ou triméthylsilyliques.

Il s'agit maintenant de subdiviser la partie neutre qui reste après ces opérations. Comme mentionné dans l'introduction, la méthode de subdivision choisie, la chromatographie par déplacement des groupes, ne nous a pas entièrement satisfaits. La désactivation de l'adsorbant, gel de silice, est délicate à effectuer et

malgré cela, l'altération de quelques composants peut se produire dans le champ de force très puissant à la surface de l'adsorbant. On a réussi à éviter ces effets en travaillant à basse température; le tube chromatographique était continuellement refroidi à l'eau. On a évité ainsi le surchauffement local qu'on peut remarquer si un éluant moins polaire est suivi d'un autre. Les trois éluants, ou déplaceurs, choisis étaient le pentane, chloro-1-propane et l'éthanol. Le pentane ne peut interagir sur les molécules des composants que par les forces de dispersion; cette substance va par conséquent déplacer des composants «non-polaires», c-à-d. des hydrocarbures. Le chloro-1-propane est un solvant polaire qui ne peut cependant pas faire des ponts d'hydrogène; il déplace donc les substances polaires, sauf des alcools qui sont fortement retenus à la surface de la silice par des ponts d'hydrogène. Finalement, l'alcool déplace le reste.

Pour l'exécution de cette opération, nous avons construit un tube chromatographique rotatif (figure 2), ce qui permet de choisir la direction de travail en sens ascendant ou descendant et de changer de sens pendant le chromatogramme. On a estimé ce dispositif nécessaire après avoir observé que l'interface entre deux solvants est bien nette, si le solvant inférieur est plus dense que le solvant supérieur; dans le cas contraire, le solvant plus dense a pénétré à des distances considérables dans l'autre en se frayant des chemins le long de la paroi du tube. On a donc dilué l'huile avec 50 % de pentane et on a laissé entrer ce mélange en sens ascendant dans le tube rempli par l'adsorbant sous vide poussé. Le groupe α était déplacé par le pentane en sens descendant, le groupe β par le chloro-1-propane en sens ascendant et finalement, on a déplacé le groupe γ avec de l'alcool, en sens descendant.

La figure 3 montre le changement d'indice de réfraction des fractions. La séparation entre les groupes α et β était très nette; par contre, nous avons retrouvé presque tous les composants principaux de groupe β comme composant mineur du groupe γ et vice versa. Des alcools tertiaires se trouvaient partagés entre les deux groupes β et γ .

A ce stade et après avoir libéré les groupes des solvants utilisés, l'huile se trouve subdivisée en:

- substances volatiles
- acides, comme des esters méthyliques (contenant des substances solubles dans l'eau)
- phénols, comme des phénoléthers
- bases
- groupe α (contenant principalement des hydrocarbures)
- groupe β (contenant principalement des substances polaires, sauf les alcools)
- groupe γ (contenant principalement des alcools).

Au cours de la distillation, on voit que la séparation en groupes présente encore un autre avantage. La formation d'azéotropes est courante entre substances à pouvoir d'interaction très différent et elle est moins prononcée entre les compo-

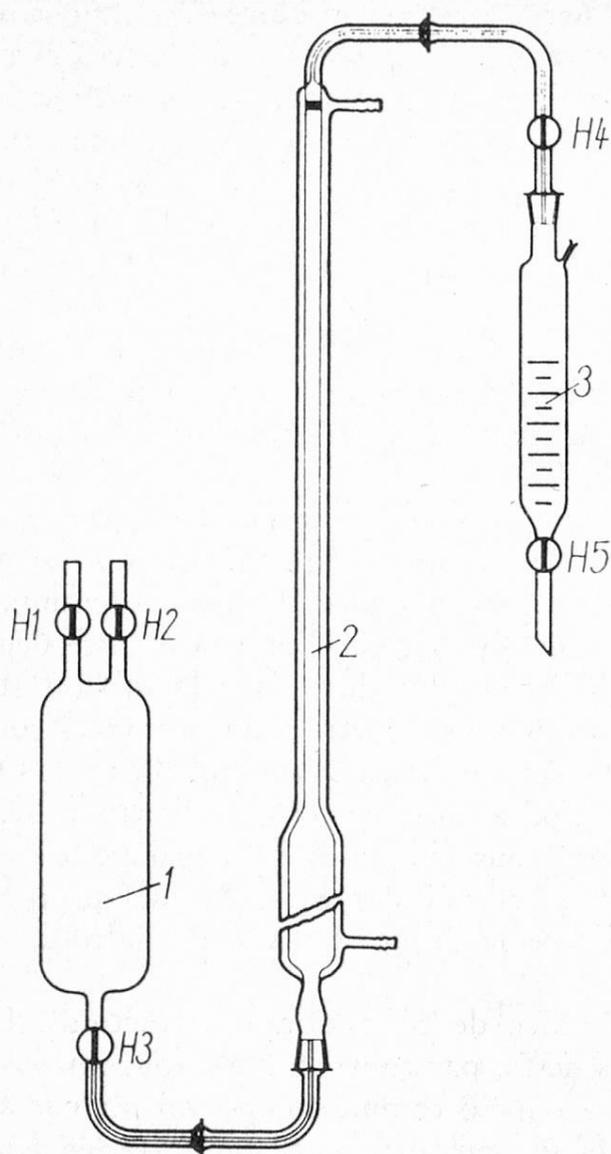


Figure 2. Appareil pour chromatographie par déplacement.

1: récipient pour l'huile ou les solvants; 2: tube chromatographique avec manteau de refroidissement; 3: récipient gradué pour la prise des fractions; H1—H5: robinets. Longueur totale du tube: 160 cm. (Reproduit avec l'autorisation de Helv., voir [1]).

sants des groupes obtenus. Par conséquent, les composants en traces sont enrichis dans une fraction de distillation bien déterminée, sans être entraînés sur plusieurs fractions par la formation d'azéotropes.

Les fractions de distillation ainsi obtenus sont prêtes à l'analyse par chromatographie en phase gazeuse. Par la suite, un chromatogramme analytique est préparé pour chaque fraction de distillation sur deux phases stationnaires, une de type non polaire (Apiezon-L, mélange des hydrocarbures), l'autre de type polaire (Emulphor-O, un polyéthylèneglycol avec un groupe stéaryl) et les indices de rétention calculés. Cette évaluation systématique a permis une comparaison des fractions de distillation et l'établissement d'un plan de travail pour décider quelles fractions de distillation devaient être analysées par chromatographie préparative.

2. Isolement des composants purs

Avant de décrire l'isolement systématique des composants, il est nécessaire de discuter la méthode et le principe de séparation par chromatographie préparative.

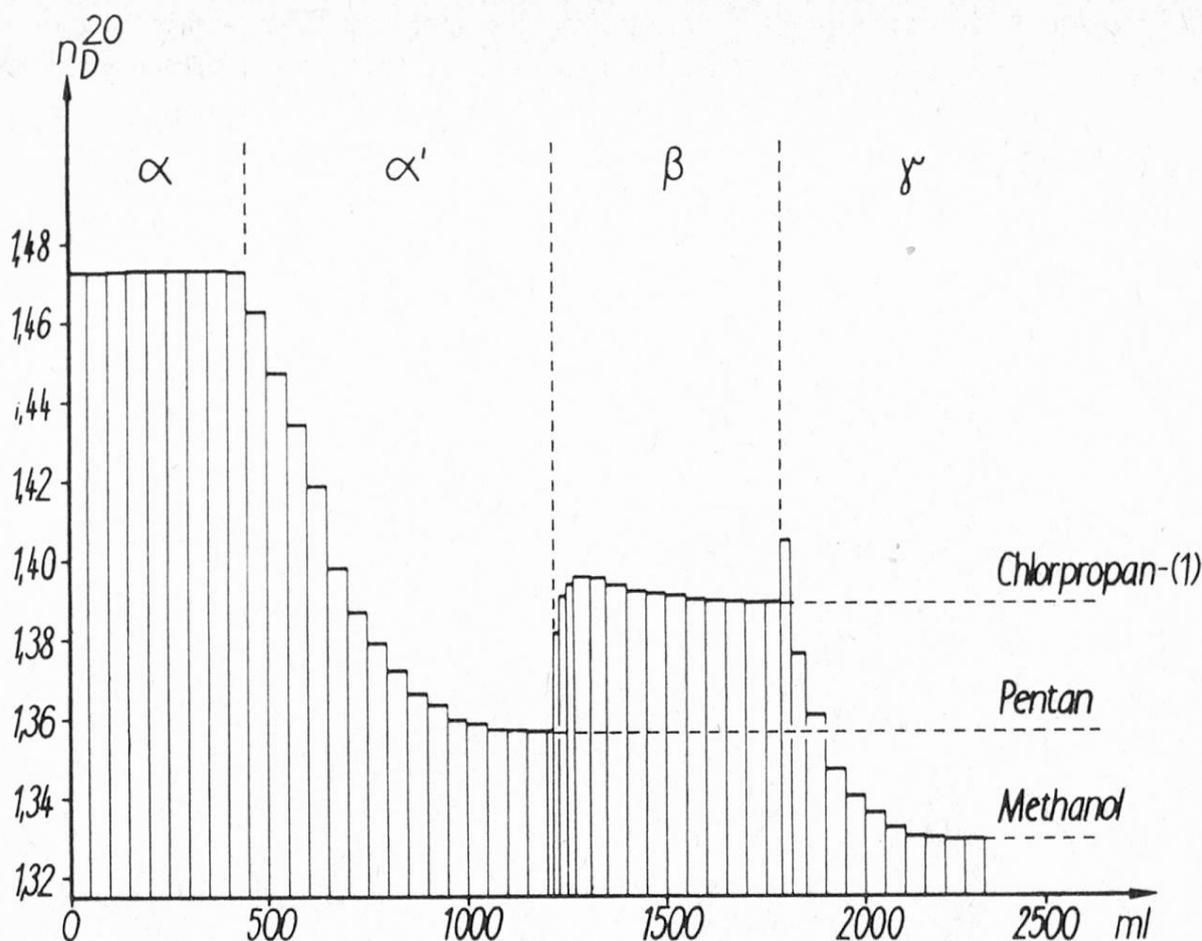


Figure 3. Contrôle du déroulement d'un chromatogramme par déplacement par l'indice de réfraction des fractions. (Reproduit avec l'autorisation de Helv., voir [1]).

Nous le ferons sur l'exemple de mélanges aussi simples que possibles, pour en déduire des règles pour le travail sur les mélanges complexes. Tout d'abord, on peut constater qu'une seule phase stationnaire ne permet pas la séparation des composants. On travaille donc selon le principe de la chromatographie sur couche mince à deux dimensions, c-à-d. que les fractions obtenues sur la première phase doivent être subdivisées sur une deuxième phase ayant un caractère séparateur différent de la première. Pendant une vingtaine d'années de travail sur les huiles essentielles, nous n'avons rencontré que trois cas où nous avons dû faire appel à une troisième phase stationnaire parce que nous n'avons pas pu séparer deux composants sur les deux premières phases. Ceci illustre bien la puissance de combinaison des deux phases stationnaires.

Dans ce genre de travail, une certaine systématique est indispensable, raison pour laquelle nous consacrerons aussi un chapitre à ce sujet.

2.1 Isolement des composants par chromatographie préparative

A. Séparation d'un mélange binaire

Contrairement à l'avis général, deux composants ne doivent pas apparaître dans un chromatogramme avec une différence de temps de rétention de quel-

ques dizaines de minutes pour qu'on puisse les séparer. Une séparation de 3σ (trois écarts-types) suffit largement. La méthode de travail est présentée dans la

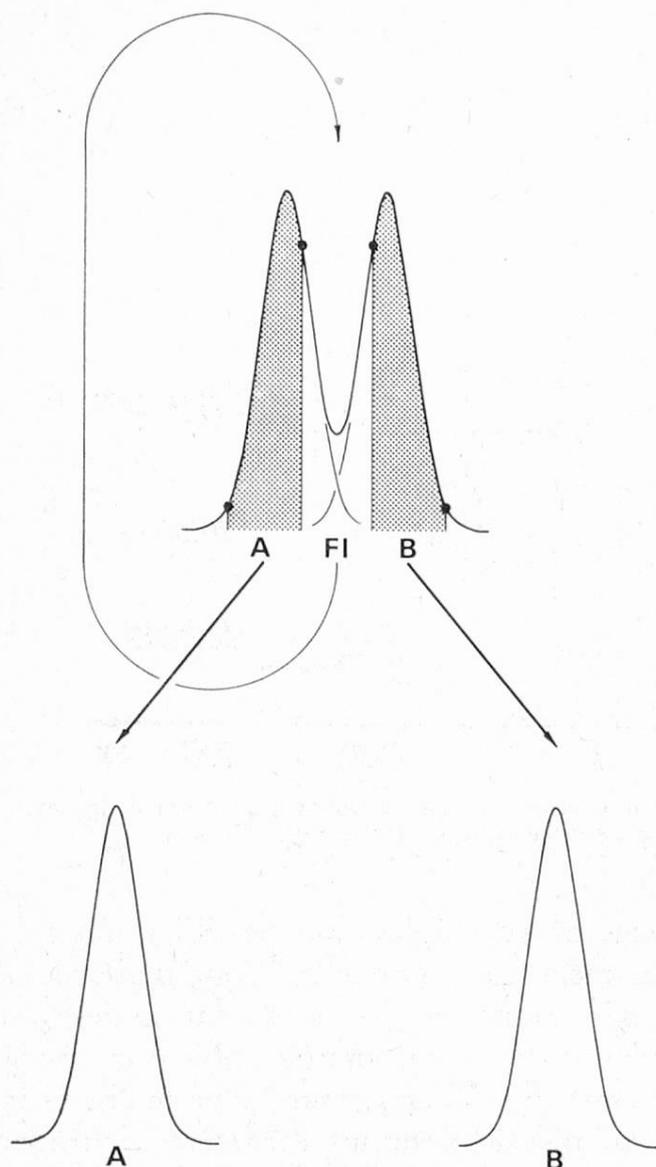


Figure 4. Séparation d'un mélange binaire à deux composants (A et B) principaux séparés à 3σ par chromatographie préparative. FI: fraction intermédiaire (reproduit avec autorisation réf. [3]).

figure 4. On partage le mélange binaire en trois fractions: A, B et une fraction intermédiaire. La fraction intermédiaire (ci-après FI) a la même composition que le mélange original et sera réinjectée avec la prochaine portion. Le schéma de séparation doit être modifié si un des composants est de teneur faible.

La figure 5 montre l'enrichissement dans une première opération. La FI de la première opération est recyclée. On obtient par la suite une fraction pur A et un mélange AB qu'on purifie comme indiqué. Dans cette deuxième opération, on peut se permettre de rejeter la fraction R, étant donné que A est le composant principal. Si on a peu de matière, R de la deuxième opération peut être recyclé en revenant à l'opération précédente.

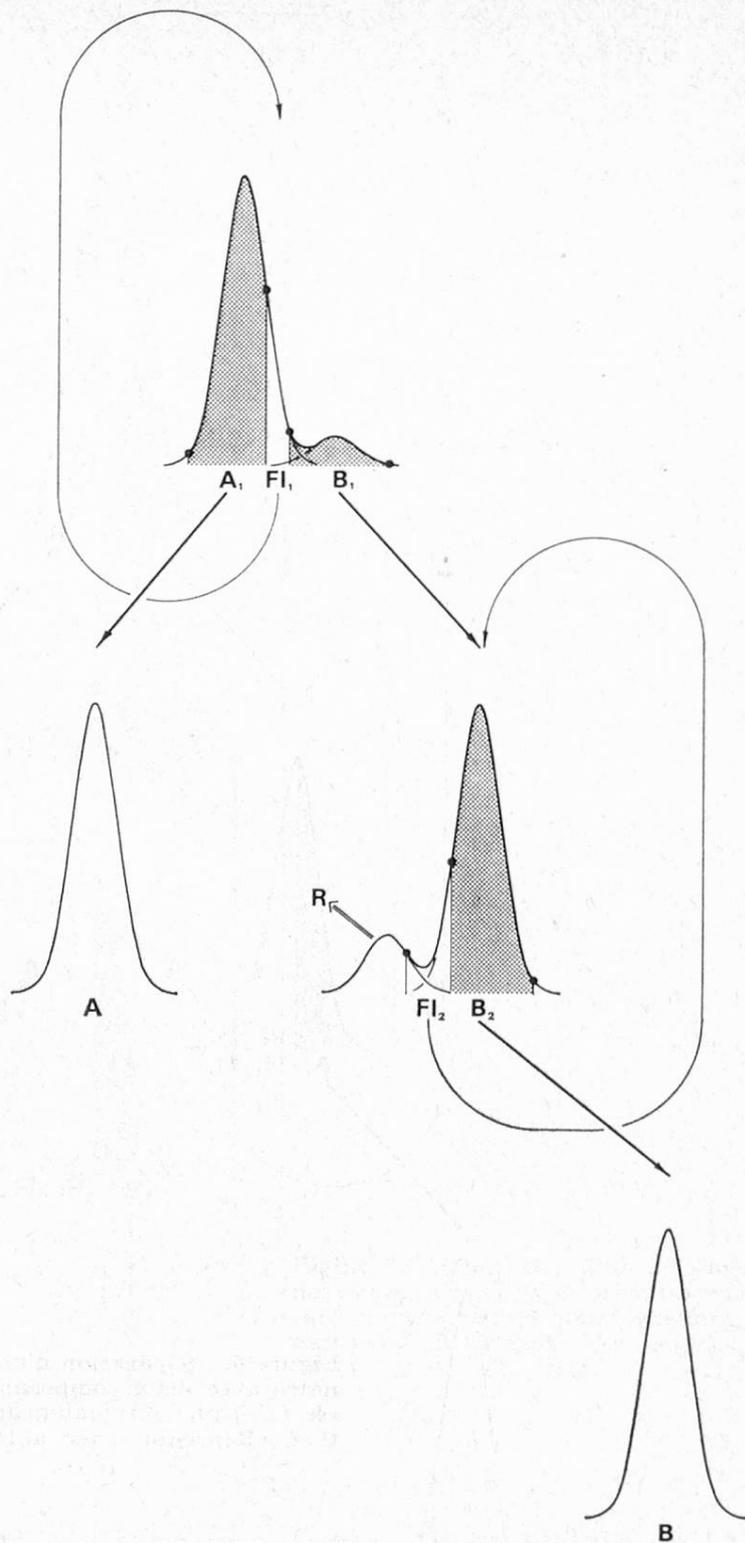


Figure 5. Séparation d'un mélange binaire à un composant mineur (B) séparé à 3σ par chromatographie préparative. FI: fraction intermédiaire, R: fraction rejetée. (Reproduit avec autorisation réf. [3]).

Si les deux composants sont mal séparés, une extension de ce principe avec la prise et recyclage des FI-s permet une séparation dans trois ou mêmes plusieurs opérations illustrées par l'exemple d'une séparation à 2σ sur la figure 6. Le schéma est similaire à celui d'une cristallisation fractionnée. La figure 7 montre le schéma de séparation de deux composants mal séparés, dont un est de faible teneur.

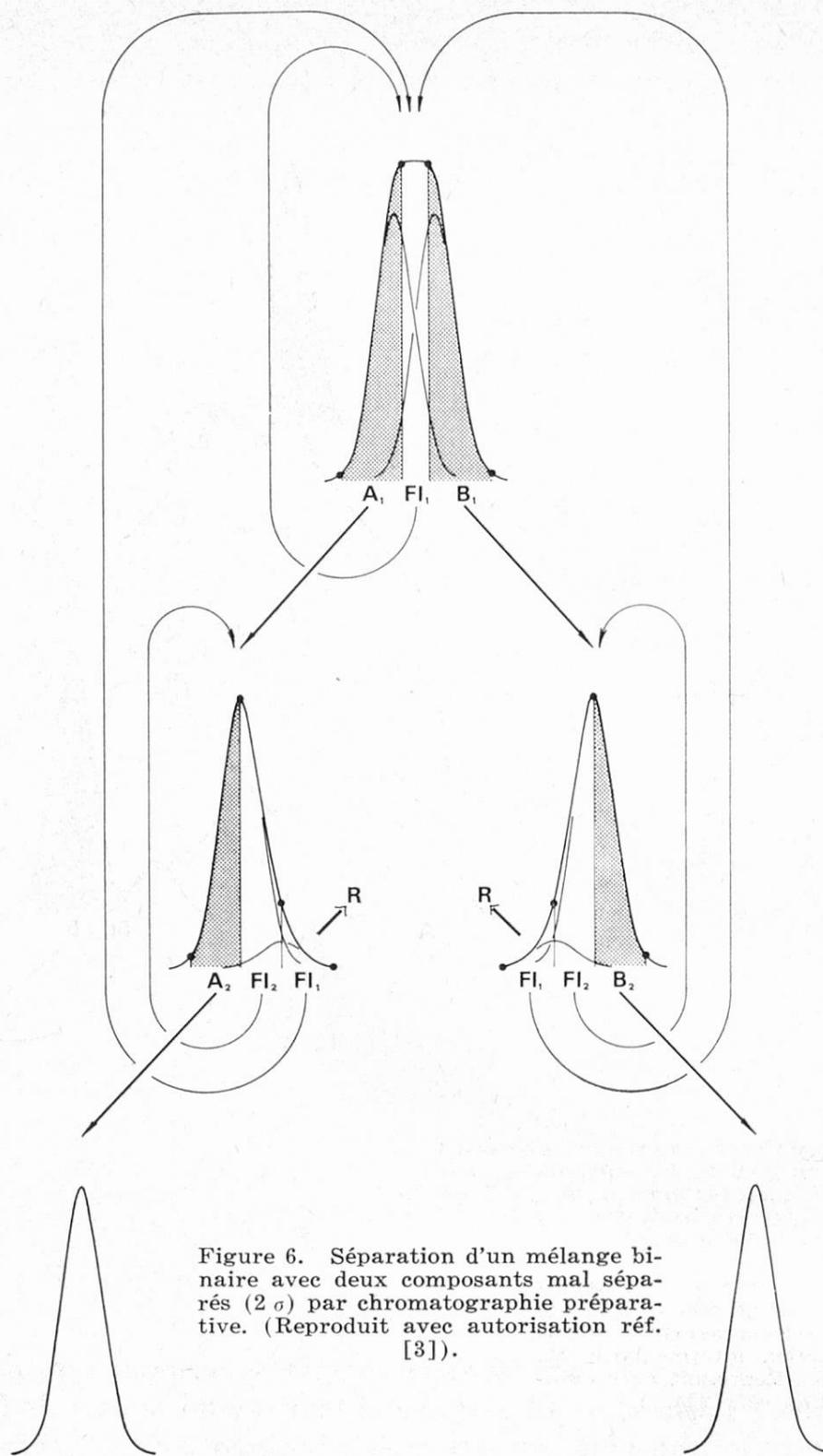


Figure 6. Séparation d'un mélange binaire avec deux composants mal séparés (2σ) par chromatographie préparative. (Reproduit avec autorisation réf. [3]).

B. Isolement des composants par séparation successive sur deux phases stationnaires

Le schéma suivant permet de comprendre l'idée de base:

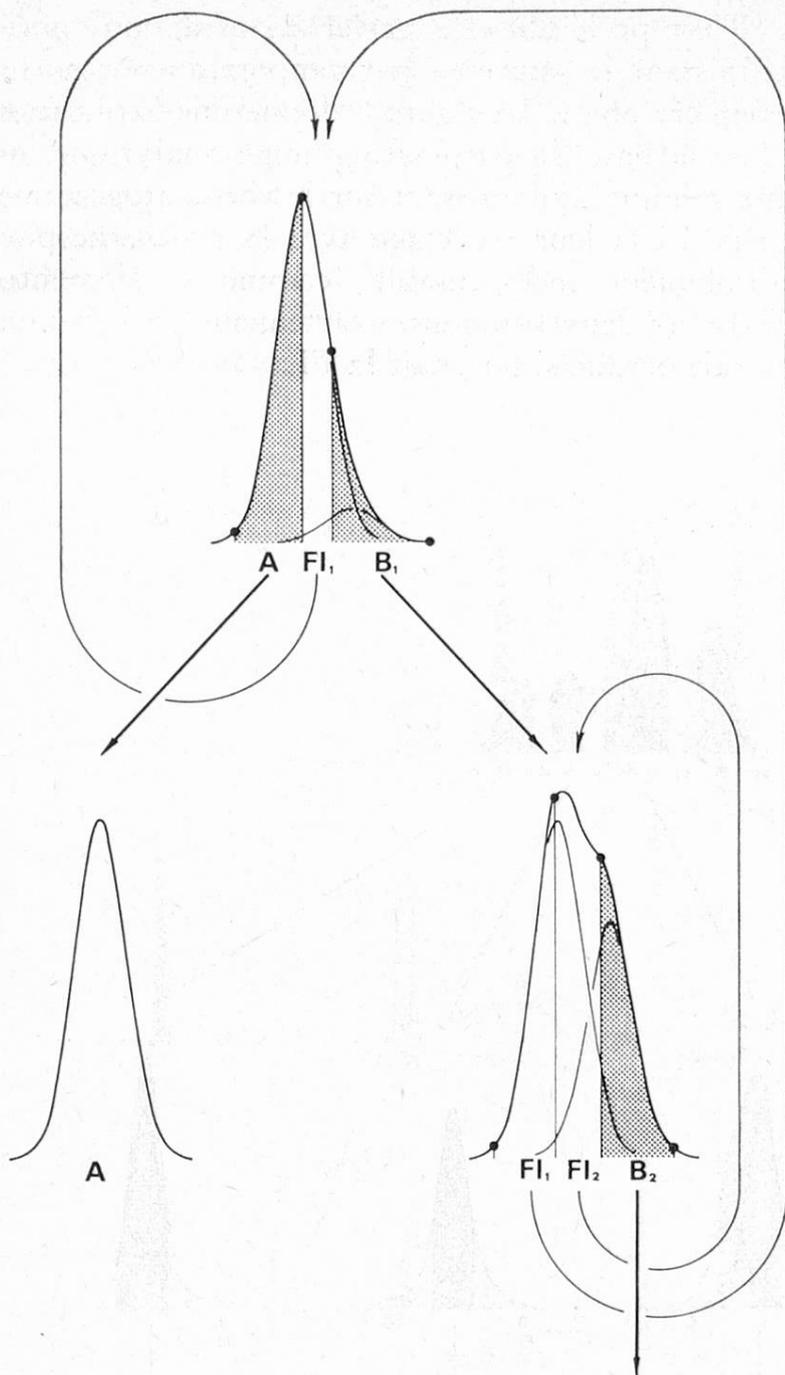
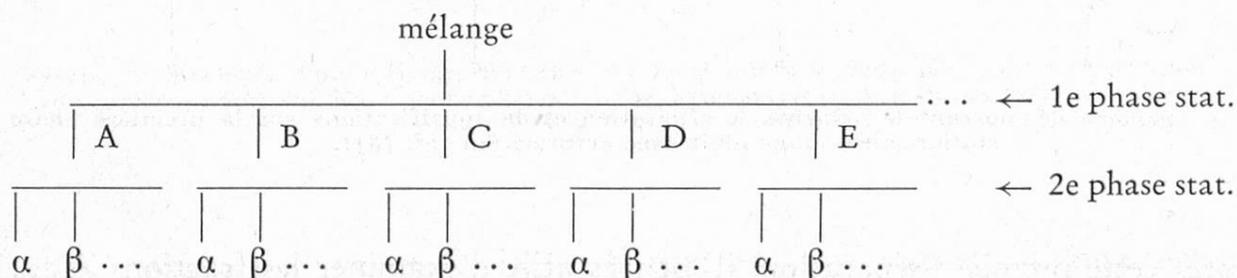


Figure 7. Séparation d'un mélange binaire mal séparé (2σ) avec un composant mineur par chromatographie préparative. (Reproduit avec autorisation réf. [3]).



Les fractions livrées par la séparation sur la première phase stationnaire sont systématiquement traitées sur une deuxième dont le caractère séparateur est nettement différent. Il est évident que les fractions de la première séparation sont des

mélanges. Dans notre discussion, il est préférable de parler de «fractions pures de la première séparation» en définissant la «pureté» par rapport au comportement chromatographique sur la première phase. La figure 8 donne une explication à l'aide d'un exemple construit. Sur la base du chromatogramme analytique, on décide de prendre les fractions aux minima apparaissant sur le chromatogramme. Le schéma général, c-à-d. la prise de FI et leur recyclage avec la prochaine portion injectée est maintenant absolument indispensable, comme le démontre l'exemple des fractions A et B. Entre ces deux fractions, exactement à mi-chemin, se trouve une substance pure qui serait perdue si on jetait la FI.

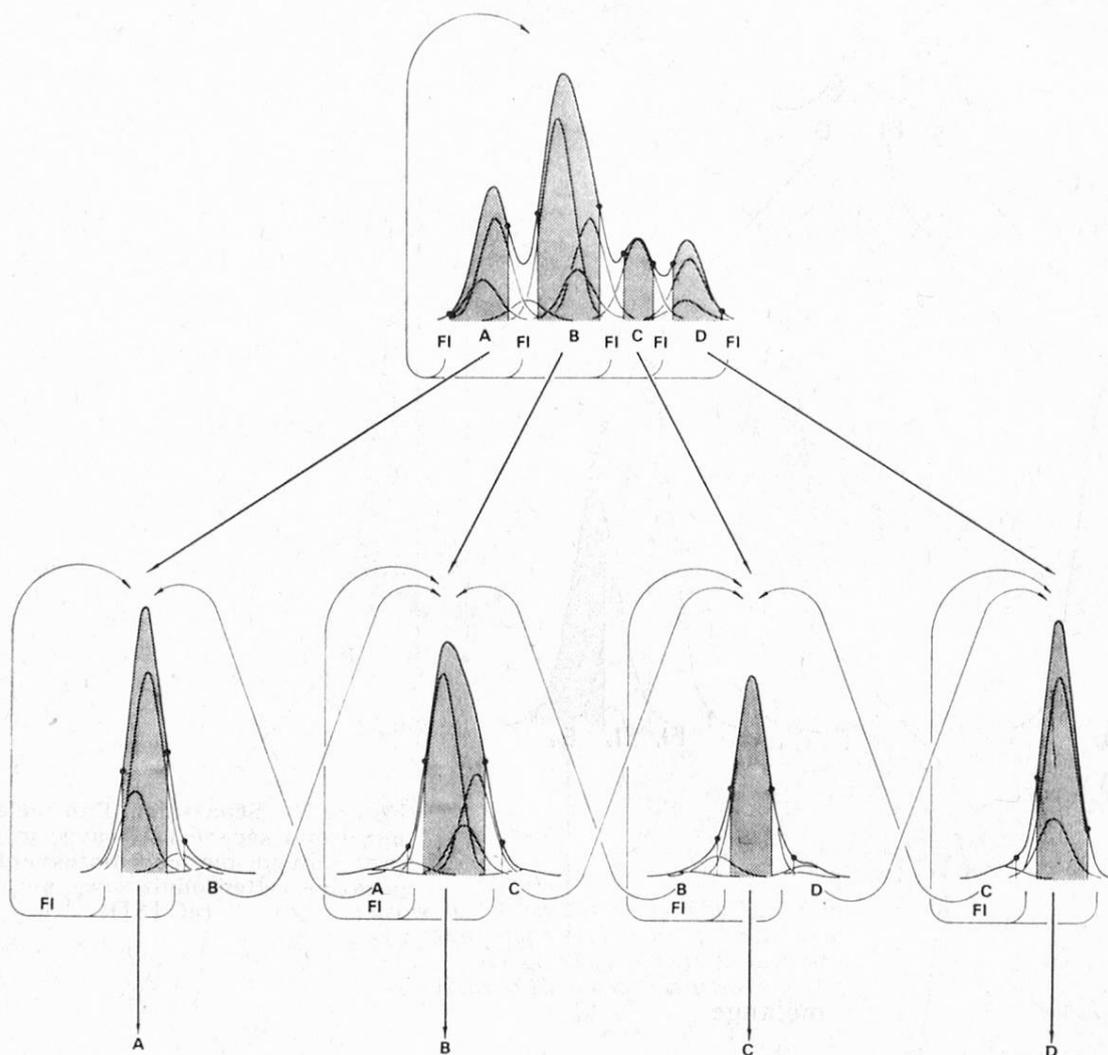


Figure 8. Schéma démontrant le principe de séparation et de «purification» sur la première phase stationnaire. (Reproduit avec autorisation réf. [3]).

Après cette première séparation, il est très utile d'examiner les fractions A... D à l'aide de la chromatographie analytique avant de les «purifier», c-à-d. de séparer nettement les mélanges pour obtenir les «fractions pures». L'opération suivante est la séparation de chacune de ces fractions sur la deuxième phase stationnaire.

Il est souvent mentionné qu'une phase stationnaire est supérieure à une autre si elle donne de «bonnes séparations». On doit constater qu'il n'y a pas de phase stationnaire privilégiée pour l'analyse des mélanges complexes; par contre, il y a des paires qui le sont. La paire la meilleur a deux phases stationnaires avec le caractère séparateur le plus différent. Dans le travail courant, il est pratique de choisir une des phases stationnaires comme une phases apolaire, c-à-d. un hydrocarbure. Il est clair que l'ordre de succession des deux phases séparatrices est indifférent pour le but à atteindre, comme démontré sur la figure 9 avec l'exemple d'un mélange ternaire. Il est clair que pour ce mélange, on pourrait trouver une

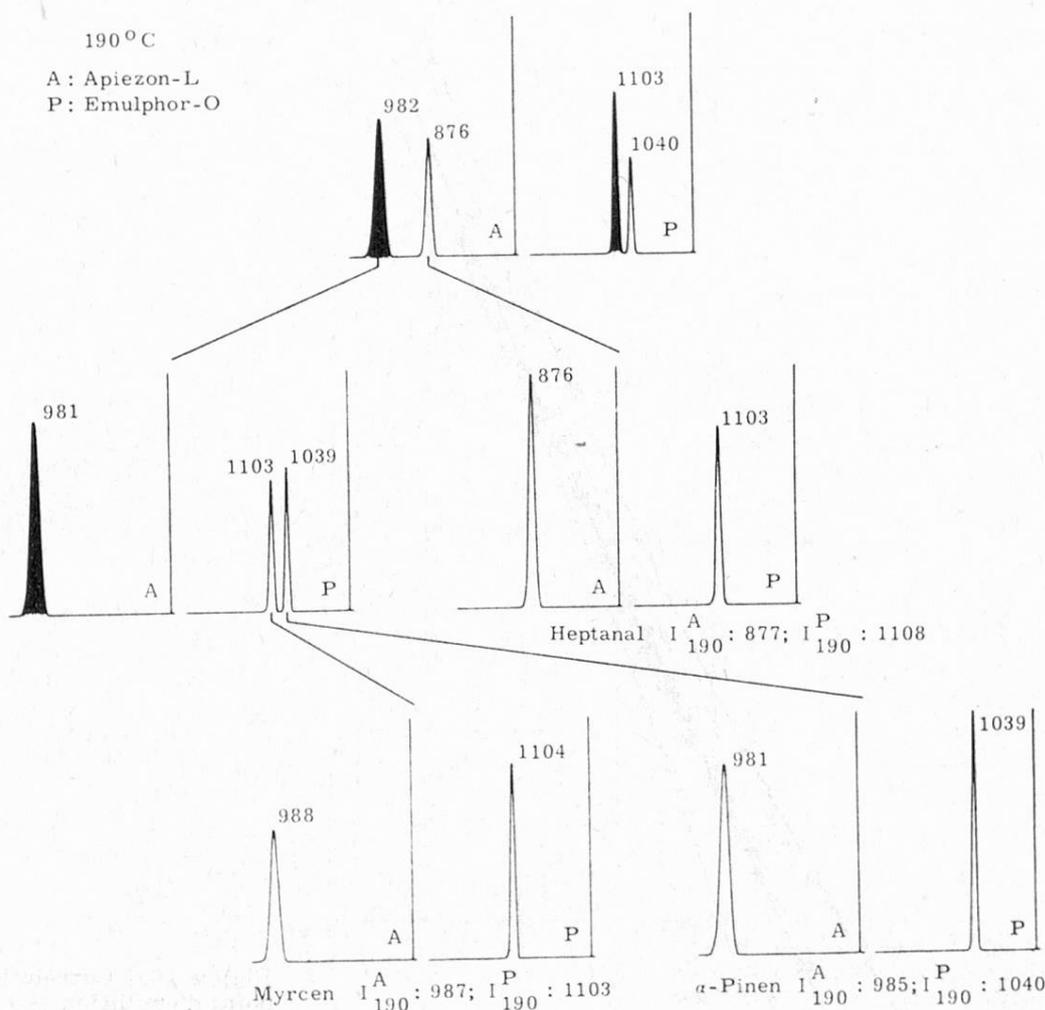


Figure 9. Exemple d'un mélange ternaire qui ne donne que deux pics, soit sur Apiezon-L (type: hydrocarbure), soit sur Emulphor-O (type: polyéthylèneglycol). Les lignes poursuivent le schéma de séparation en utilisant la succession A → P.

phase stationnaire (par exemple, le mélange des deux phases stationnaires utilisées) qui permette une nette séparation des trois composants. Imaginons par contre que ce mélange ternaire fasse partie d'un mélange complexe; alors, avec la variation de la phase stationnaire, il y aura toujours des paires de substances qui se formeront sur l'une ou l'autre des phases. Par conséquent, ni l'une ni l'autre de ces deux

phases est meilleure, mais la combinaison des deux est un système séparateur plus puissant.

Pour des raisons pratiques, on utilise la phase apolaire en premier, bien qu'on puisse effectuer la première séparation indifféremment sur l'une ou l'autre. Sur une phase «non-polaire», les indices de rétention montrent une corrélation avec le point d'ébullition (figure 10); ainsi, les fractions de distillation au plus haut point d'ébullition contiennent des composants dont les indices de rétention sont les plus élevés.

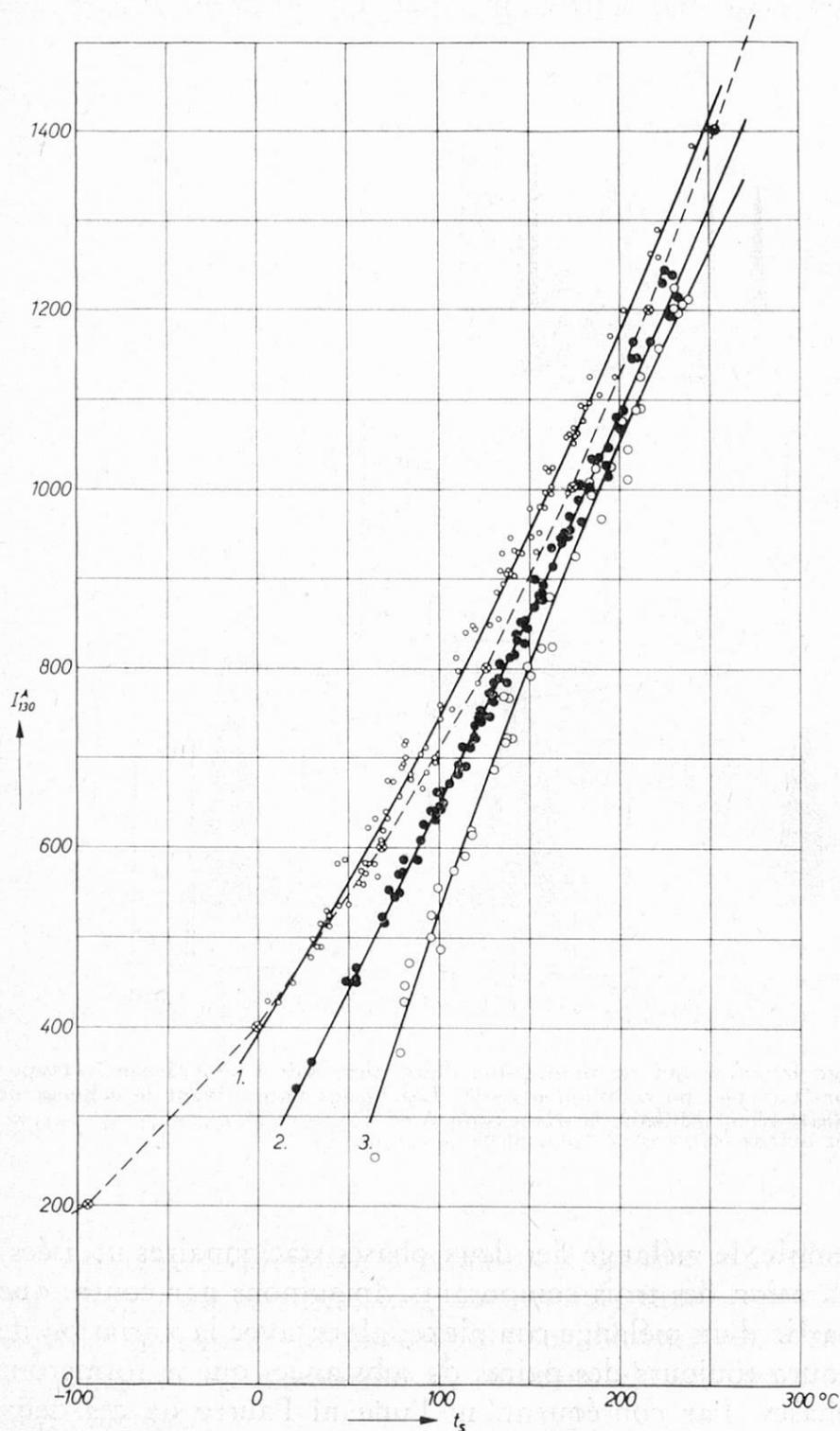


Figure 10. Corrélation entre le point d'ébullition (t_s) et l'indice de rétention (I_{130}^A) sur Apiezon-L (phase stationnaire de type non polaire) de quelques centaines de substances en trois groupes: 1: hydrocarbures et sub. faiblement polaires (éther, chlorures et bromures), 2: sub. polaires (esters aliphatiques cycliques et aromatiques, aldéhydes, cétones, etc.), 3: sub. de haute polarité et alcools (nitrils, dérivés nitro, etc.) (reproduit avec autorisation Helv. réf. [4]).

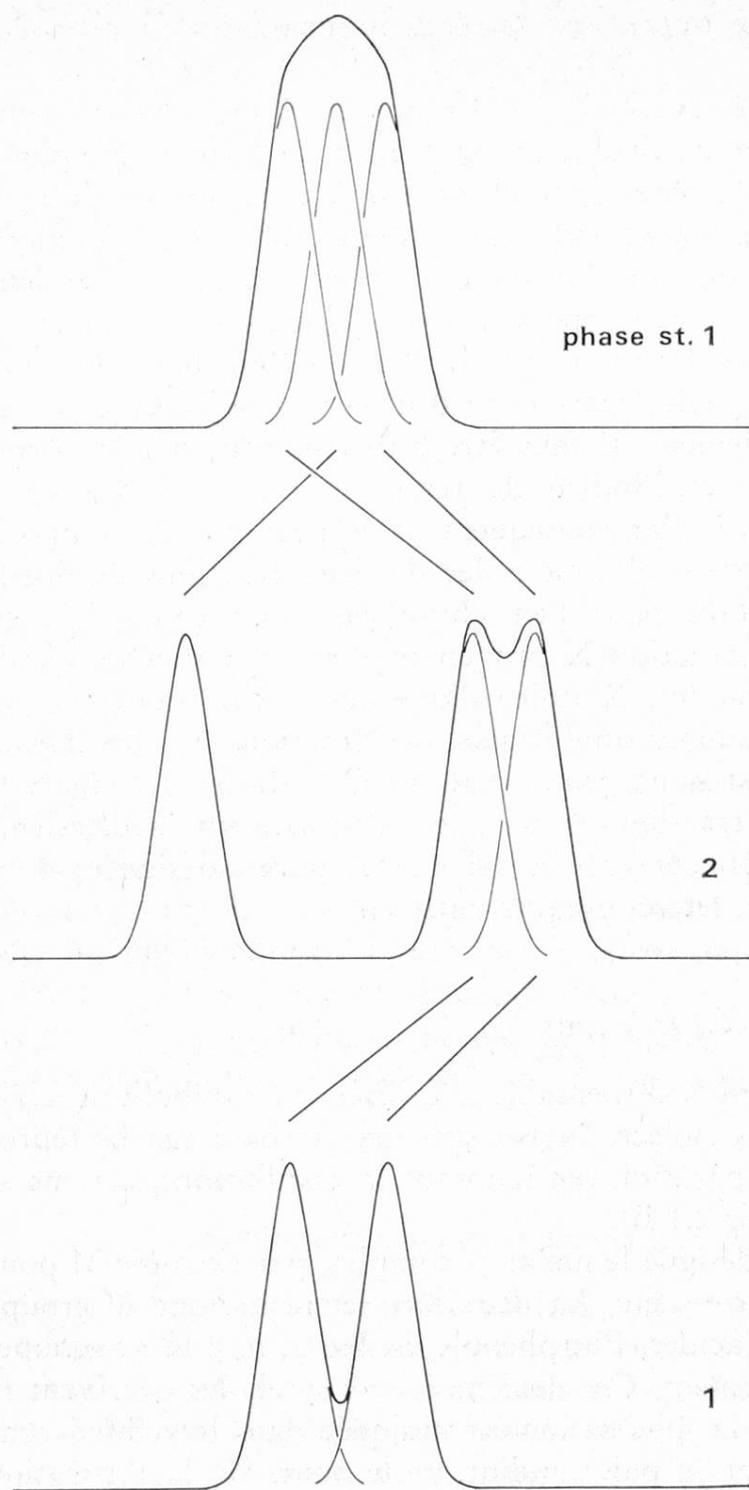


Figure 11. Schéma de séparation par chromatographie préparative d'un mélange ternaire. Pour explication voir texte. (Reproduit avec autorisation réf. [4]).

Finale­ment, il faut décrire un cas spécial qui arrive assez souvent en cours de séparation sur deux phases: Soit un mélange ternaire (figure 11) avec trois composants mal séparés représentant la fraction «pure» de la première séparation. En principe, les composants A et C sont bien séparables sur cette phase; c'est seulement la présence du composant B qui fait une «liaison» entre les deux pics. Sur la deuxième phase séparatrice, il se peut que les deux composants A et C soient de nouveau mal séparés, mais le composant B apparaît fortement déplacé. Après

isolement de B, le mélange binaire restant est facilement séparé sur la première phase.

Resumons le cours de l'analyse. Après la subdivision de l'huile, nous avons fait un chromatogramme analytique de chaque groupe entier sur la première phase de la séparation préparative. Sur la base de ce chromatogramme, on a établi un plan en décidant quelles fractions «apolaires» on voulait isoler. Ces fractions ont été désignées par des lettres majuscules latines, dans l'ordre progressif de leur indice de rétention, A, B, C... Après cette opération, on a distillé le groupe et on a évalué les chromatogrammes des fractions de distillation. Sur base de cette évaluation et en examinant dans quelle fraction de distillation A, B, C... a été enrichie, on a établi un plan d'isolement. Il faut être bien conscient que la corrélation entre le point d'ébullition et l'indice de rétention sur la phase «non polaire» est nette, mais pas parfaite. Par conséquent, il se peut que la composition d'une fraction X soit différente si elle est isolée de deux fractions de distillation. Ce fait est parfois important pour l'enrichissement d'un composant en traces qui est facile à isoler d'une fraction X provenant d'une fraction de distillation, mais très difficile d'une fraction X isolée d'une autre. Une planification sérieuse, sur base des chromatogrammes analytiques des fractions de distillation sur les deux phases stationnaires est donc primordiale pour le succès de l'analyse.

Par la suite, la séparation des fractions A, B... est effectuée sur la deuxième phase. Les fractions isolées sont en général les substances pures, désignées dans l'ordre croissant des indices, par des lettres grecques minuscules.

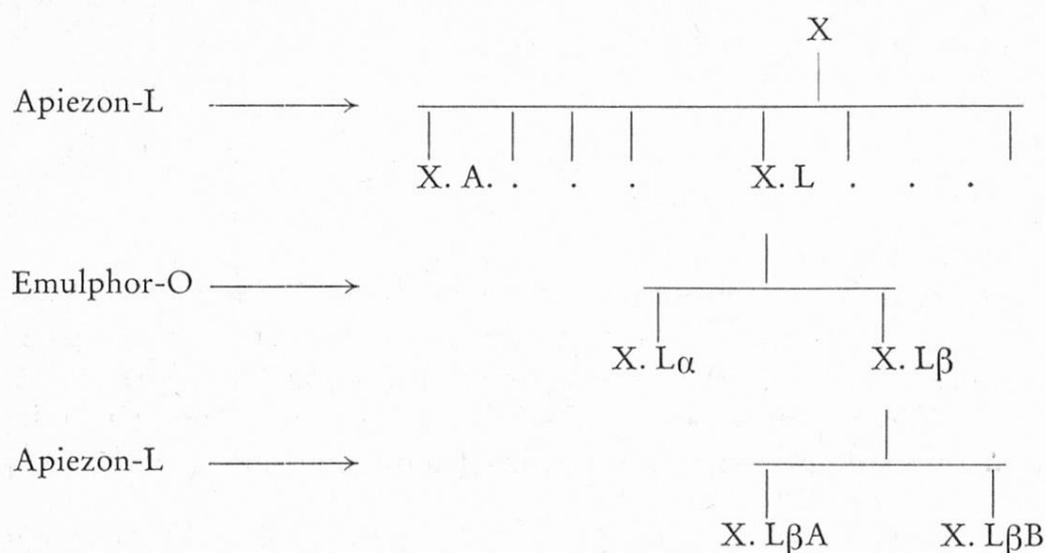
2.2 Désignation des composants et des fractions

Dans ce genre de travail, il est indispensable d'utiliser un symbolisme clair pour la désignation des substances isolées. Notre système est basé sur la reproduction symbolique du cours de séparation (en ignorant la distillation), comme se présente un arbre généalogique (voir 2.1 B).

La première lettre du symbole désigne le mélange complet, par exemple M pour mandarine, L pour lime, R pour rose, etc. La deuxième lettre indique le groupe de la subdivision: V: volatiles, A: acides, Ph: phénols, B: bases, α , β et γ : groupes de la chromatographie par déplacement. Ces deux premiers symboles décrivent la subdivision du mélange. La fin de la subdivision est indiquée dans le symbole par un point. Les symboles qui suivent le point indiquent le cours de la séparation par chromatographie préparative.

Le nom final d'une substance sera donc composé en général de quatre symboles; les deux premiers indiquent la provenance et les deux derniers la séparation par chromatographie préparative. Le symbole $M\alpha \cdot B\alpha$ signifie ainsi que le composant en question a été isolé du groupe α de l'huile essentielle de la pelure de mandarine; la deuxième fraction obtenue sur la phase apolaire (Apiezon-L) a été subdivisée sur une phase polaire (Emulphor-O) et la substance en question était la première fraction de cette dernière séparation. Prenons un deuxième exemple, celui du cas spécial du mélange ternaire cité à la fin du chapitre précédent: soit le mélange

ternaire la L-ième fraction obtenue par la séparation d'un produit X. Le schéma de séparation va se présenter comme suit:



Encore un exemple. Comme déjà mentionné — rarement, mais cela arrive — on ne réussit pas à séparer des composants sur deux phases stationnaires; les fractions de la deuxième séparation sont encore des mélanges binaires qui ne sont séparables qu'avec une troisième phase. Dans ce cas, nous avons appliqué avec succès un méthylsilicon comme phase «différente» des deux autres. Une extension logique du symbolisme permet de désigner les substances ainsi obtenues. Imaginons que dans le schéma ci-dessus, la troisième séparation soit effectuée sur un méthylsilicon au lieu d'Apiezon-L, on désigne alors les deux substances par X. L β 1 et X. L β 2.

3. Caractérisation et identification des substances isolées

Tout d'abord, une caractérisation excluant toute ambiguïté est nécessaire, ce qui est possible par la détermination des propriétés physiques de l'échantillon. Le travail est largement facilité si on a une quantité relativement importante; avec de petites quantités, il s'allonge de plus en plus. Le tableau suivant résume ce travail. Par quantité importante, nous entendons à peu près 100 mg, ce qui permet la détermination sans régénération intermédiaire des spectres RNM, IR, UV et MS, ainsi que la densité, indice de réfraction et de pouvoir rotatoire. Avec des quantités décroissantes, les propriétés marquées par le signe + sont déterminables partout avec un appareillage moderne, mais les manipulations exigent un temps considérablement plus long.

Parmi ces méthodes, seule la spectroscopie de masse est destructrice, donc en caractérisant 1 mg ou moins, il faut appliquer cette méthode en dernier ressort. Avec de telles quantités, il est nécessaire de régénérer la substance entre la prise de deux spectres.

Substance mg	RNM	IR	UV	MS	d	n_D^{20}	$[\alpha]_D^{20}$	GC
100	20—40	20	2	1	100	7	100	1
10	+	+	+	+	—	—	+	+
1	+	+	+	+	—	—	—	+

Sur la base de ces propriétés, on peut proposer une structure. Si la substance correspondant à cette structure est déjà décrite dans la littérature, on compare les propriétés d'une référence avec celles des composants. Pour les substances à structure inconnue, la référence doit être synthétisée, auquel cas le travail et le temps investi peuvent durer d'une semaine à plusieurs mois, voire des années.

4. Analyse quantitative

Après la caractérisation et l'identification des composants, on connaît aussi leur comportement chromatographique. Dans une première étape, on cherche à établir un chromatogramme de haute résolution, de préférence sur une colonne capillaire. On détermine les indices de rétention et on essaie de corrélérer les pics avec les substances identifiées. De toute façon, on n'est jamais certain qu'il n'y ait pas une substance non identifiée sous un pic d'une substance retrouvée au cours de l'analyse, ce qui peut par conséquent introduire une erreur dans l'analyse quantitative, erreur sérieuse pour les composants en traces. Le pourcentage indiqué sur la base d'une telle analyse est donc la limite supérieure de la teneur. Dans le tableau 1, on a reproduit le résultat d'une telle analyse.

5. Remarques finales

La durée d'une analyse complète dépend de la complexité du mélange et du degré de perfection recherché. Il est clair que le nombre des composants augmente sérieusement suivant la limite qu'on veut atteindre pour les composants en traces et que l'abaissement de cette limite par un facteur 10 peut allonger le travail d'analyse de plusieurs années. Au cours d'une «analyse complète», il se peut qu'on n'ait pas pu retrouver les composants en traces d'importance technologique, c-à-d. pour la reproduction synthétique de l'arôme. Dans un tel cas, une analyse supplémentaire est nécessaire, en collaboration avec un parfumeur dans le but précis de retrouver les traces en question.

Tableau 1
Analyse quantitative de l'huile essentielle de la pelure de mandarine

	substances identifiées ‰	teneur en (+)-forme ‰	substances non identifiées ‰	résidu de distillation ‰
hydrocarbures				
<i>A. monoterpènes et leur dérivés</i>				
(+)- α -thujène	0,456	100		
(-)- α -pinène	2,467	32		
myrcène	1,189	—		
(-)-camphène	0,366	38		
(+)- β -pinène	1,278	83		
<i>p</i> -cymène	8,156	—		
(+)-limonène	67,724	96		
γ -terpinène	9,139	—		
terpinolène	0,573	—		
<i>B. sesquiterpènes</i>				
(+)-ylangène	0,008	66		
(-)-caryophyllène	0,022	2		
(+)-longifolène	0,012	91		
(+)- γ -sélinène	0,008	74		
(-)- α -sélinène	0,017	0		
<i>C. au moins 11 hydrocarbures non identifiés</i>			0,219	
<i>D. résidu de distillation: «hydrocarbures»</i>				2,055
substances oxygénées				
<i>A. alcools</i>				
<i>a) alcools gras</i>				
héptanol-1	0,016	—		
octanol-1	0,089	—		
décanol-1	0,038	—		
<i>b) monoterpènes et leurs dérivés</i>				
(-)-hydrate de sabinène (<i>cis</i> ?)	0,056	35		
(+)-linalool	0,245	84		
(-)-hydrate de sabinène (<i>trans</i> ?)	0,110	33		
(+)-citronelloi	0,025	84		
néroi	0,052	—		

	substances identifiées ‰	teneur en (+)-forme ‰	substances non identifiées ‰	résidu de distillation ‰
alcool α , α , p-triméthyl-benzylique	0,031	—		
géraniol	0,012	—		
(—)-terpinénol-4	0,110	21		
(+)- α -terpinéol	1,110	74		
(\pm)- <i>trans</i> -carvéol	0,041	50		
(?)- <i>cis</i> -carvéol	0,022	?		
<i>c) divers</i>				
alcool benzylique	0,009	—		
au moins 43 alcools non identifiés			0,229	
résidu de distillation: «alcools»				1,776
<i>B. acétates</i>				
acétate de décyl-1	0,002	—		
acétate de géranyl	0,003	—		
<i>C. oxydes des monoterpènes</i>				
cinéol-1,8	0,002	—		
<i>D. aldéhydes</i>				
octanal	0,035	—		
décanal	0,038	—		
undécanal	0,003	—		
dodécanal	0,006	—		
(+)-périlla-aldéhyde	0,050	92		
sinensal ¹	0,137			
<i>E. cétones</i>				
(+)-carvone	0,026	61		
au moins 26 substances non identifiées: esters, oxydes, cétones, aldéhydes, etc.			0,146	
résidu de distillation: esters, oxydes, cétones, aldéhydes, etc.				0,659
<i>F. eau</i>	0,065	—		
<i>G. acides (isolés comme esters méthyliques)</i>				
acide oenantique	0,004	—		
acide caprylique	0,044	—		
acide pèlargonique	0,013	—		
(?)-acide citronellique	0,006	?		
acide caprinique	0,029	—		
acide undéconique	0,003	—		

	substances identifiées ‰	teneur en (+)-forme ‰	substances non identifiées ‰	résidu de distillation ‰
acide laurique au moins 7 «acides» non identifiés résidu de distillation: «acides»	0,006	—	0,012	0,072
H. phénols thymol résidu de distillation: «phénols»	0,084	—		0,003
I. bases N-méthylanthranylate de méthyl au moins 3 «bases» non identifiées résidu de distillation: «bases»	0,850	—	0,008	0,034
résumé				
49 substances identifiées au moins 92 substances non identifiées résidus de distillation	94,787		0,609	4,604

¹ Cette substance figure dans le travail original (1) comme un «aldéhyde sesquiterpénique». Trois ans plus tard, Stevens, Lundin et Teranishi ont retrouvé le même composant dans la pelure de l'orange chinoise (*citrus sinensis*) et ils ont décelé sa structure (5).

Références

1. Kugler E. et sz. Kováts E.: Helv. **46**, 1480 (1963).
2. sz. Kováts E.: Helv. **46**, 2705 (1963).
3. Kugler E.: Thèse à l'École Polytechnique Fédérale de Zürich, No 3369 (1963).
4. Wehrli A. et sz. Kováts E.: Helv. **42**, 2709 (1959).
5. Stevens K. L., Lundin R. E. et Teranishi R.: J. Org. Chem. **30**, 1690 (1965).

Les travaux cités aux références (1) à (4) ont été financés par la maison Firmenich & Cie, Genève.

Michel Moinas, Département Recherches et Développement Société d'Assistance Technique pour Produits Nestlé SA, Lausanne, Suisse. Directeur du Dépt. R & D: Professeur Louis Rey.

Arome volatil de produits laitiers — Extraction et identification

Extraction

De toutes les méthodes d'extraction en usage dans la chimie des arômes, seules sont envisageables pour les produits laitiers celles qui ne nécessitent aucun chauffage: extraction par solvant, technique d'espace de tête, distillation ou entraînement par un gaz à température ambiante et autres (1). L'extraction par solvant est rendu malaisée par la présence d'une quantité importante de graisse et l'extraction combinée Celite-acétonitrile décrite par *N. P. Wong* et *O. W. Parks* (2) n'est applicable qu'au fromage, qui présente un caractère odorant prononcé. Les propriétés aromatiques peu marquées des autres produits laitiers, et spécialement du lait lui-même, rendent inopérantes aussi bien la technique d'espace de tête que l'entraînement par un gaz sous pression atmosphérique.

Nous avons donc mis au point une méthode générale d'extraction d'arômes, s'appliquant à tous les produits laitiers, qu'ils soient liquides ou solides, et plus généralement à toutes les compositions peu aromatiques et biologiquement fragiles: l'entraînement à l'argon sous pression réduite et à basse température (figure 1).

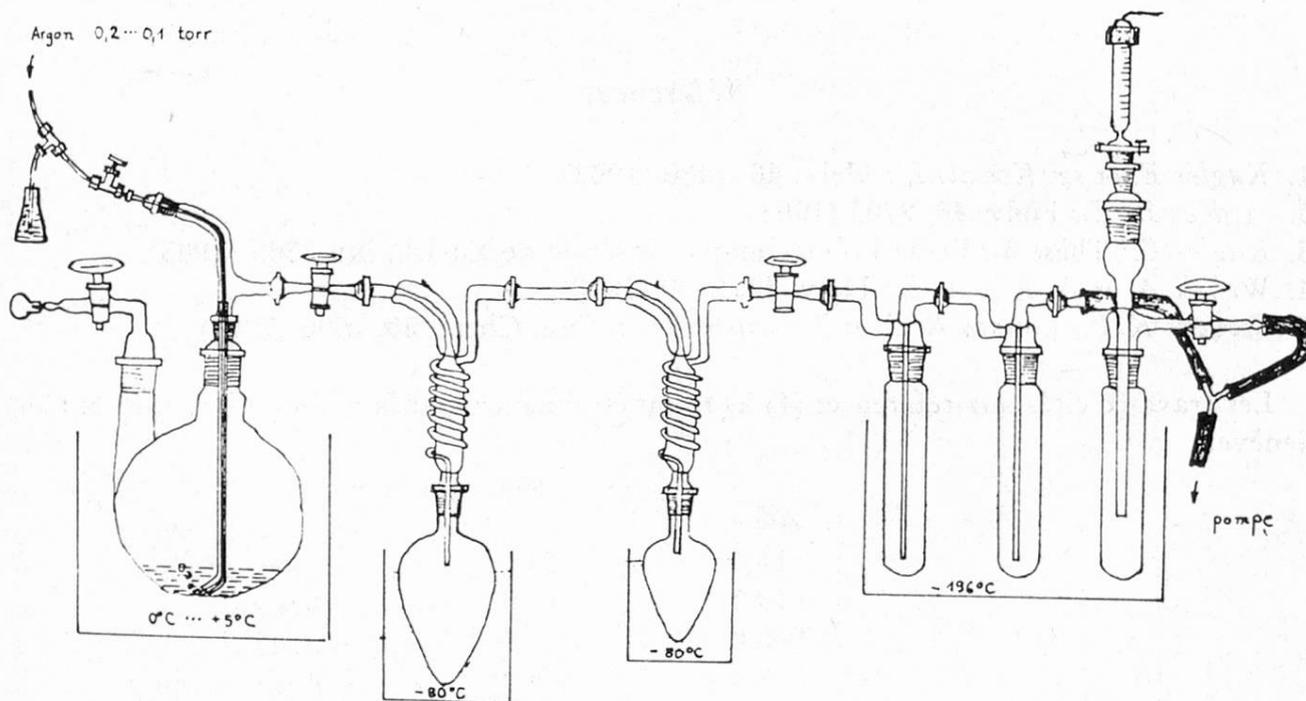


Figure 1. Schéma du montage d'entraînement à l'argon sous pression réduite.

Le produit laitier liquide ou son émulsion dans l'eau, s'il s'agit d'un solide, est maintenu à 4 ° C durant toute l'expérience. Après avoir dégazé l'appareillage, on introduit de l'argon sous un faible débit et le distillat, solution aqueuse d'arome très diluée, se condense dans deux pièges successifs portés à -80°C , température nécessaire pour capter les composés très volatils. On dispose finalement un piège à azote liquide pour protéger le montage des vapeurs d'huile de pompe.

Les tests de reniflage («sniffing») effectués sur le mélange des distillats des deux pièges à -80°C montrent que cette méthode à l'argon donne un arome très représentatif du produit du départ. On retrouve fidèlement la note de fraîcheur des yoghourts, les défauts organoleptiques des laits oxydés ou trop chauffés, les caractéristiques aromatiques des fromages, etc. . . .

On extrait alors au chlorure de méthylène, puis on concentre soigneusement à l'aide de l'appareil de la figure 2. Au cours de cette concentration, il n'apparaît pratiquement aucun déséquilibre, ainsi que le montrent les chromatogrammes

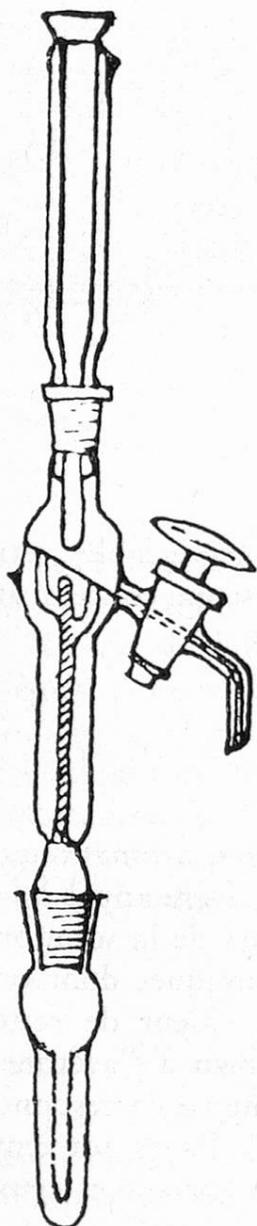


Figure 2. Appareil pour la concentration de solutions d'arome à l'échelle de 5 à 10 μl .

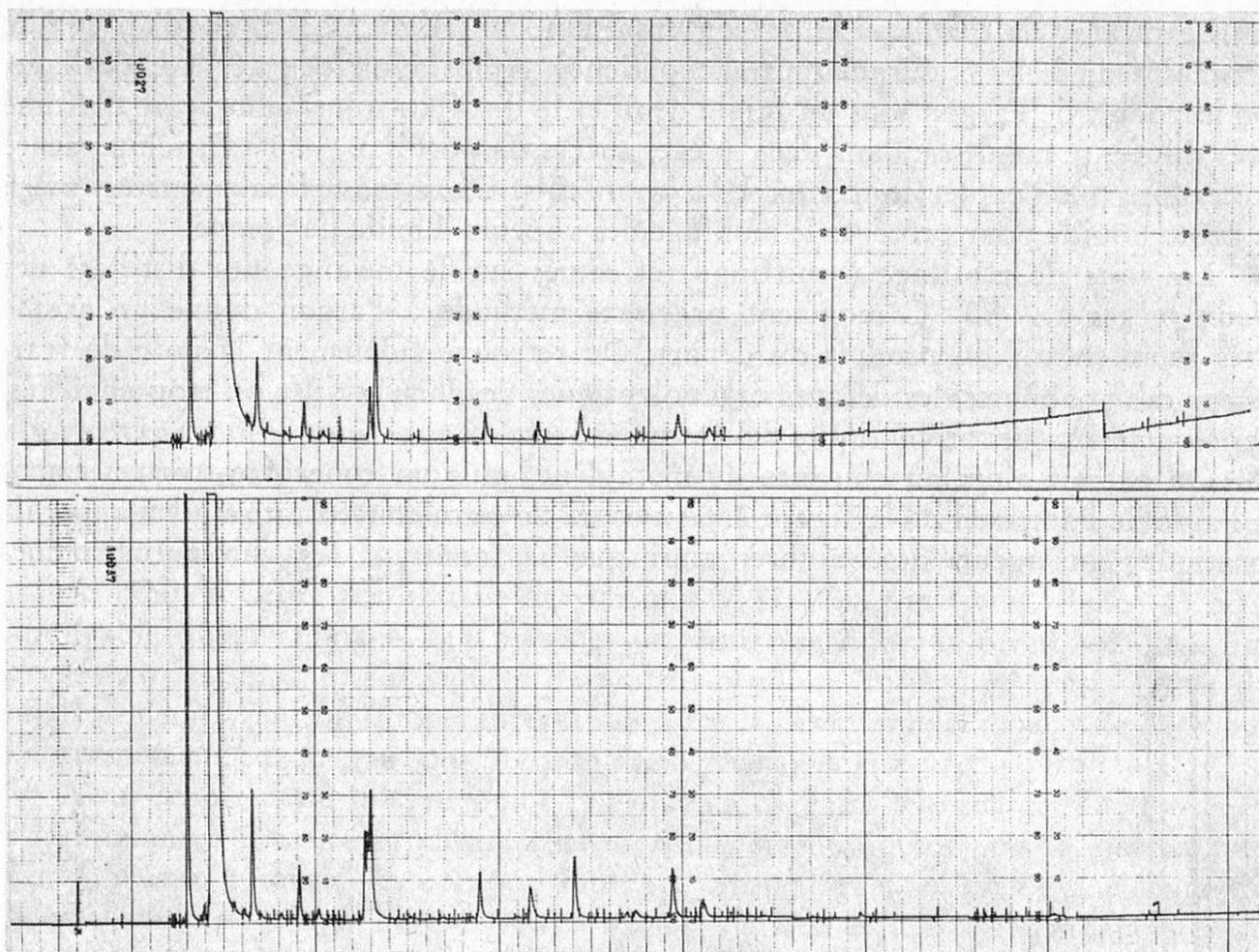


Figure 3. Arome de Camembert
 haut: arome dilué dans 500 μl de CH_2Cl_2 ; inj. 5 μl ; att. 1
 bas: arome conc. dans 50 μl de CH_2Cl_2 ; inj. 5 μl ; att. 10

d'arome de Camembert de la figure 3. Les pertes sont en outre négligeables, car le solvant au haut de la colonne est sans odeur. On obtient ainsi un concentrat d'arome prêt pour l'injection en chromatographie en phase gazeuse.

Identification par chromatographie en phase gazeuse

L'identification des constituants, dans le cas de produits très aromatiques, peut être conduite de façon classique. Nous pouvons, entre autres, faire appel à la technique de dilution, qui consiste à comparer les chromatogrammes de la solution d'arome et de cette même solution «dopée» par les composés chimiques dont on suspecte la présence. La figure 4 est un exemple qui illustre la valeur de cette technique sur colonne capillaire: ainsi, le pic No 1 correspond bien à l'acétone, le pic No 6 à la pentanone-2, mais ni le pic No 3, ni le pic No 4 ne correspondent à la butanone-2 comme on aurait pu le soupçonner. Il est d'ailleurs souvent possible de recouper les résultats de la chromatographie en phase gazeuse et ceux

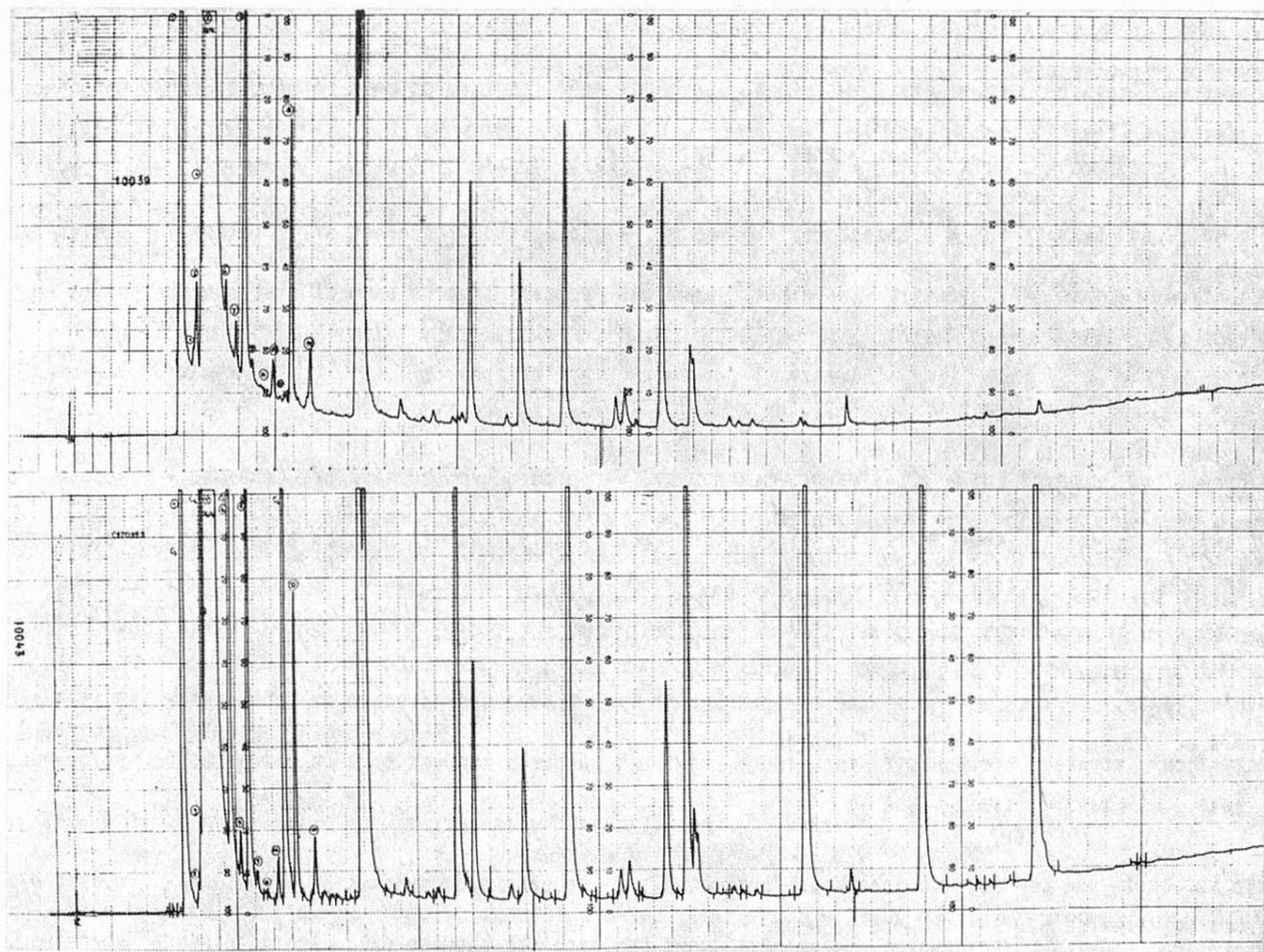


Figure 4. Arôme de Camembert
 haut: arôme seul
 bas: même arôme + série des méthylcétones C₃ à C₁₃

de la chromatographie en couche mince de dérivés judicieusement choisis, tels que les dinitro-2,4 phénylhydrazones, etc. . . .

Le cas du lait et, dans une moindre mesure, celui du yoghourt pose des problèmes d'une autre dimension. Le peu d'arômes que nous obtenons ne permet qu'un nombre très limité d'injections et nous avons dû développer un programme d'identification par ordinateur (3) qui calcule les indices de Kovats en température programmée et les compare aux valeurs stockées sur un fichier de référence. La figure 5 est une partie de la liste («listing») obtenue dans l'analyse d'un arôme de yoghourt commercial.

Partie expérimentale

Lait et yoghourt

1 litre de lait ou 5 yoghourts nature (900 g), entraînés dans l'appareillage décrit ci-dessus, sous 0,1 à 0,2 mm Hg d'argon, donnent, après 5 heures, environ 50 ml de distillat (réunion du contenu des deux pièges). On extrait par 3 fois 20 ml

TEMPS DE RETENTION	INDICE DE KOVATS	FOURCHETTE	INDICE THEORIQUE	NOMS DES PRODUITS TROUVES DANS LA BIBLIOTHEQUE	POIDS MOL.
-v					
PIC NO... 43 SURFACE LUE = 0.66000E 02 SURFACE ST. = 0.0050 0/0 SURFACE ST. CORRIGEE = 0.0261 0/0					
2691	1800	1786 - 1813	1791 1800	TRIDECANAL OCTADECANE	198 254
PIC NO... 44 SURFACE LUE = 0.19200E 03 SURFACE ST. = 0.0146 0/0 SURFACE ST. CORRIGEE = 0.0760 0/0					
2739	1814	1800 - 1828	1800 1817 1822 1827	OCTADECANE PHENYLACETATE DE PROPYLE BENZOATE DE BUTYLE TRANS DODECENE-2 AL	254 178 178 182
PIC NO... 45 SURFACE LUE = 0.14050E 04 SURFACE ST. = 0.1069 0/0 SURFACE ST. CORRIGEE = 0.5560 0/0					
2797	1831	1818 - 1845	1822 1827 1844	BENZOATE DE BUTYLE TRANS DODECENE-2 AL PHENYLACETATE D'ISOBUTYLE	178 182 192
PIC NO... 46 SURFACE LUE = 0.50200E 03 SURFACE ST. = 0.0382 0/0 SURFACE ST. CORRIGEE = 0.1986 0/0					
2843	1845	1831 - 1859	1844	PHENYLACETATE D'ISOBUTYLE	192
PIC NO... 47 SURFACE LUE = 0.90000E 02 SURFACE ST. = 0.0068 0/0 SURFACE ST. CORRIGEE = 0.0356 0/0					
2872	1854	1840 - 1868	1844 1864	PHENYLACETATE D'ISOBUTYLE GAMMA OCTALACTONE	192 142

Figure 5. Liste («listing») partielle d'une analyse chromatographique automatique d'un arôme de yoghourt commercial (les frouchettes de recherche ont été prises volontairement très larges)

de chlorure de méthylène fraîchement distillé, puis on concentre (appareil de la figure 2) jusqu'à ce qu'il soit nécessaire de chauffer le bain à 50 ° C, soit 10 ° C de plus que le point d'ébullition de chlorure de méthylène. On obtient ainsi 10 µl de concentrat d'arome dont on injecte 5 µl sur une colonne capillaire de Carbowax 20 M avec les conditions suivantes:

longueur de la colonne: 50 m
division de débit: 1/50
débit dans la colonne: 1 ml/mn de He
température: programme de 75 à 200 ° C
à 2 ° C/mn puis isotherme

détecteur à ionisation de flamme

Fromage

On suit le même mode opératoire et les mêmes conditions générales à partir d'une émulsion de 1,5 Camembert de Normandie (375 g) dans 1,5 litre d'eau bidistillée. L'entraînement à l'argon devant 5 h fournit 35 ml de distillat qu'on extrait par 3 fois 15 ml de chlorure de méthylène. On concentre à 500 μ l, puis à 50 μ l et on injecte à chaque étape 5 μ l (chromatogrammes de la figure 3).

Nous remercions pour leur aide technique précieuse, Mesdemoiselles *E. Schmidt* et *S. Ledermann*.

Résumé

L'obtention d'un extrait organoleptiquement significatif est une étape capitale dans l'étude des arômes de produits laitiers frais. Nous décrivons un nouveau procédé, l'entraînement à l'argon sous pression réduite et à basse température. Dans le cas du lait, la très faible quantité d'arôme obtenue nous oblige à valoriser les renseignements d'une seule analyse. Nous mentionnons une méthode d'identification par chromatographie en phase gazeuse, à partir du calcul par ordinateur des indices de Kovats adaptés à la programmation de température.

Zusammenfassung

Die Herstellung eines organoleptisch auswertbaren Extraktes ist eine wesentliche Stufe beim Studium der Aromastoffe frischer Milchprodukte. Ein neues Verfahren, die Verwendung vor Argon als Schlepper bei gleichzeitiger Druck- und Temperaturniedrigung, wird beschrieben. Aus Milch werden nur sehr kleine Mengen an Aroma erhalten, daher wird es notwendig, aus einer einzigen Analyse möglichst viele Informationen zu gewinnen. Eine Methode zur gaschromatographischen Identifizierung wird aufgezeigt; sie beruht auf einer Computerberechnung der Kovats-Indices unter Berücksichtigung des Temperaturprogrammes.

Références bibliographiques

1. *Forss D. A.*: J. Dairy Sci. **52** (6), 832—40 (1969).
2. *Wong N. P.* et *Parks O. W.*: J. Dairy Sci. **51** (11), 1768—9 (1968).
3. *Moinas M.* et *Sotek J.*: en préparation.

R. Viani et I. Horman, Département de Recherche et Développement; Société d'Assistance Technique pour Produits Nestlé SA, Lausanne, Suisse. Directeur du Dépt. R & D: Professeur Louis Rey.

Composition de l'arome de yogourt

I. Introduction

Le lait frais est une boisson de goût neutre et dont la saveur légère a été attribuée à une texture colloïdale plutôt qu'à la présence de composés chimiques définis (1). Tous les produits volatils trouvés dans le lait ont été considérés comme des défauts ou artefacts et expliqués de diverses façons: variations dans l'alimentation de la vache, traitement thermiques, ou contaminations microbiennes. La liste des composés cités dans la littérature et qui ne font pas partie de la vraie saveur du lait ne cesse de s'allonger (2, 3).

La situation est différente dans l'étude des produits alimentaires dérivés du lait: ce qui était un défaut dans le lait devient la qualité propre de l'aliment; par exemple, les cétones méthylées, dont le goût est décrit avec les adjectifs peu engageants de «douteux» ou même «métallique», lorsqu'il s'agit du lait, sont acceptées comme composants caractéristiques de la saveur particulière des fromages bleus.

Le yogourt est préparé par adjonction au lait pasteurisé des ferments *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*, tous deux essentiels pour le développement d'une bonne saveur. Il ne subit pratiquement pas de vieillissement; sa saveur se développe rapidement sous l'influence de la microflore qui provoque la fermentation et des températures assez élevées utilisées au cours de sa fabrication. On sait que, dans la méthode traditionnelle le lait, stérilisé pendant 15—30 minutes à des températures de 80—90 ° C, est fermenté 3—4 heures à 40—50 ° C.

Nous avons donc jugé utile de déterminer les produits formés sous l'action de ces deux facteurs et considérés comme responsables de la saveur caractéristique du yogourt.

II. Partie expérimentale

1. Isolement du complexe aromatique

Il existe beaucoup de techniques d'isolement d'arômes alimentaires, malheureusement très peu d'entre elles peuvent être appliquées aux produits laitiers, où des quantités très faibles d'arôme sont diluées dans une grande masse de graisse (4). La méthode employée (schéma 1) se fonde sur une extraction à basse température et sous gaz neutre; elle est expliquée en détail dans la communication précédente (5).

Schema 1: Isolement de l'arome de yogourt

1,5 kg yogourt dans ballon de 8 l

— refroidis à + 4 ° C

— dégazés, à 5×10^{-1} mm Hg

— entraînés à l'argon en récoltant le distillat pendant 6 heures dans 2 trappes à - 80 ° C.

Ceci fournit:

45 ml de solution aqueuse diluée d'arome

— répété 10 fois, soit

450 ml de solution aqueuse diluée d'arome

— extraits avec 4 fois 20 ml de CH_2Cl_2

— concentrés en chauffant doucement

10 μl d'arome à 20 %

2. Analyse par couplage CG-SM

L'arome concentré a été analysé par couplage chromatographie à gaz - spectrographie de masse à l'aide d'un séparateur à membrane (6) avec le système PYE 104 GG-AEI MS 20. Le mode opératoire est donné dans les schema 2.

Schema 2: Analyse par CG-SM de l'arome de yogourt

5 μl d'arome à 20 % dans CH_2Cl_2

— injectés dans colonne CARBOWAX 20 M (S.C.O.T.; 0,02 pouces par 50 pieds; fournie par Perkin-Elmer; débit d'hélium de 6 ml/min; 50 ° C isotherme pendant 5 min; ensuite programmation linéaire à raison de 2 ° C/min. jusqu'à 195 ° C).

40 pics chromatographiques environ

— spectres de masse pris à l'apex de chaque pic.

34 substances identifiées

par comparaison ou par analogie avec le spectre de substances de référence.

III. Résultats et discussion

Les composés identifiés sont indiqués dans le tableaux 1 à 5. Les substances dont les noms sont en italiques sont, à notre connaissance, citées pour le première fois dans l'arome d'un produit laitier.

Tableau 1
Substances d'origine microbiologique identifiées dans l'arome de yogourt

Formule brute	Substance	Précurseur
C ₂ H ₄ O C ₄ H ₆ O ₂ C ₄ H ₈ O ₂	Acétaldéhyde Diacéthyle Acétoïne	Composés du cycle Lactose-citrate
C ₅ H ₈ O ₂ C ₅ H ₁₀ O ₂ C ₅ H ₁₀ O ₂	<i>Acétylpropionyle</i> <i>Hydroxy-2 Pentanone-3</i> <i>Hydroxy-3 Pentanone-2</i>	Composé du cycle de la thréonine? Ces composés sont probablement formés secondairement sous l'influence de la température.

Tableau 2
Substances formées dans l'arome de yogourt par dégradation thermique de la graisse

Formule brute	Substance	Précurseur
C ₃ H ₆ O C ₄ H ₈ O C ₅ H ₈ O C ₆ H ₁₂ O	Acétone Butanone <i>Pentène-3 one-2</i> Hexanone-2	Acides céto-alcanoïques (4)
C ₇ H ₁₄ O C ₉ H ₁₈ O C ₁₁ H ₂₂ O	Heptanone-2 Nonanoe-2 Undécanone-2	
C ₅ H ₈ O ₂ C ₆ H ₁₀ O ₂ C ₈ H ₁₄ O ₂ C ₁₃ H ₂₂ O ₂	γ -Valérolactone δ -caprolactone δ -caprilactone δ -tridécalactone	Acides hydroxylés (4)
C ₅ H ₁₂ C ₆ H ₁₂	Pentane <i>Méthylcyclopentane</i>	

IV. Conclusions

La méthode très douce utilisée dans ce travail pour la préparation de l'arome, nous a permis de déceler certains constituants d'origine microbiologique et/ou thermique qui sont réellement formés lors des traitements technico-logiques mis

Tableau 3

Substances formées par dégradation thermique dans l'arome de yogourt à partir de la graisse et/ou du lactose

Formule brute	Substance	Précurseur
C ₇ H ₆ O	Benzaldéhyde	
C ₇ H ₈ O	Alcool Benzylique	
C ₈ H ₈ O ₂	Benzoate de Méthyle	

Tableau 4

Substances formées par dégradation thermique dans l'arome de yogourt à partir du lactose

Formule brute	Substance	Précurseur
C ₅ H ₂ O ₂	Furfural	
C ₅ H ₆ O ₂	Alcool Furfurylique	
C ₆ H ₆ O ₂	Méthyl-5 furfural	
C ₆ H ₈ O ₂	Furyl-Méthyl cétone	
C ₆ H ₈ O	Diméthyl-2,5 furanne	
C ₇ H ₈ O ₂	Furyl-2 propional-3	
C ₇ H ₈ O ₂	Furyl-Ethyl cétone	
C ₉ H ₁₄ O	Pentyl-2 furanne	

Tableau 5

Substances formées par dégradation thermique dans l'arome de yogourt à partir des protéines

Formule brute	Substance	Précurseur
C ₂ H ₆ S	Diméthyl sulfure	Méthionine
C ₂ H ₆ O ₂ S	Diméthyl sulfone	Méthionine
C ₄ H ₈ O	Isobutyraldéhyde	Valine
C ₈ H ₈ O	Phénylacétaldéhyde	Phénylalanine

en œuvre pour la préparation du yogourt et non pas pendant l'extraction de l'arome au laboratoire. Nous tenons à remercier ici Monsieur M. Moinas qui nous a fourni l'échantillon d'arome de yogourt soumis à l'analyse.

Résumé

34 substances ont été identifiées au cours d'une analyse CG-SM d'un arôme de yogourt préparé par extraction à l'argon à basse température. La formation de ces constituants aromatiques est attribuée soit à un mécanisme microbiologique dérivé du cycle lactose-citrate, soit à une dégradation thermique survenant au cours de la fabrication du yogourt et qui affecte le trois principaux groupes de composants du lait: graisses, lactose et protéines.

Références

1. Kinsella J. E., Patton S., Dimick P. S.: J. Amer. Oil Chemist's Soc. 44 449 (1969).
2. Scanlan R. A., Lindsay R. C., Libbey L. M., Day E. A.: J. Dairy Sci. 51 1001 (1968).
3. Siek T. J., Lindsay R. C.: J. Dairy Sci. 51 1887 (1968).
4. Patton S.: J. Dairy Sci. 44 207 (1961).
5. Moinas M.: Communication précédente.
6. Llewellyn P., Littlejohn D.: 16th Annual Conference on Mass Spectrometry and Allied topics, ASTM, Committee E-14, Pittsburgh Penna (1968).

B. Zimmerli, B. Marek und H. Sulser, Eidg. Gesundheitsamt Bern, Sektion Pestizide und Kontaminationen*

Technische Assistenz: H. Gysin und M. Lisibach

Erfahrungen bei der Bestimmung von chlorierten Biphenylen und chlorhaltigen Pestiziden

(z. T. gekürzte Fassung)

1. Einleitung

Die polychlorierten Biphenyle, kurz PCB's genannt, verdanken ihre Entdeckung als Kontaminationen der Tatsache, daß sie beim Auswerten von Gaschromatogrammen bezüglich chlorierter Pestizide einen viel höheren Gehalt der letzteren vortäuschen. Obwohl die chlorierten Biphenyle seit 1881 bekannt sind (1) und seit 1929 industriell hergestellt werden, ist man in der Rückstandsanalytik erst seit 1966 (2) auf sie aufmerksam geworden. Auf einer QF-1-Säule interferieren beispielsweise die folgenden Pestizide mehr oder weniger mit Peaks aus Aroclor 1254: β -HCH, o,p'-DDE, p,p'-DDE, o,p'-DDD, o,p'-DDT sowie p,p'-DDD, wobei natürlich die Konzentrationsverhältnisse eine Rolle spielen.

2. Säulenchromatographie

In der Literatur (5, 6, 7, 8) sind eine Reihe von Methoden beschrieben, die zur Abtrennung der Pestizide von den PCB's eine Säulenchromatographie benützen. In der Tabelle 1 sind unsere Resultate mit Standardlösungen für eine Säulen-

* Leiter der Sektion Dr. B. Marek.

Tabelle 1 Elution chlorierter Pestizide und Aroclor 1254 von Florisil*

Substanz	A		B	
	150 ml PE	200 ml 6 0/0 Et ₂ O in PE	150 ml PE	200 ml 6 0/0 Et ₂ O in PE
Aroclor 1254	92 0/0	8 0/0	100 0/0	—
Hexachlorbenzol	—	105 0/0	80 0/0	20 0/0
Aldrin	104 0/0	—	104 0/0	—
Lindan	—	106 0/0	35 0/0	70 0/0
p,p'-DDE	95 0/0	5 0/0	100 0/0	—
p,p'-DDD	—	90 0/0	60 0/0	40 0/0
p,p'-DDT	—	100 0/0	80 0/0	10 0/0

PE = Petroläther 40/60; Et₂O = Diäthyläther

* Florisilqualität und Säule entsprechen den AOAC-Spezifikationen (10)

A: Standard mit 2x5 ml PE auf die Säule gespült

B: Standard mit 2x5 ml 6 0/0 Et₂O in PE auf die Säule gespült.

chromatographie an Florisil, einem in der Rückstandsanalytik sehr oft verwendeten Adsorbens, zusammengestellt.

Die in der Spalte A aufgeführten Prozentzahlen zeigen, daß mit Petroläther als Elutionsmittel mindestens Hexachlorbenzol, Lindan, p,p'-DDD und p,p'-DDT aus dem Gemisch der PCB's vom Typ Aroclor 1254 abgetrennt werden können. Wird jedoch zur Einspülung auf die Florisilsäule statt Petroläther eine Mischung von 6 0/0 Aether in Petroläther (AOAC erstes Eluat) verwendet (Spalte B), so ändert sich die Elution vollständig. Es gelingt nun beispielsweise nicht, p,p'-DDD, Lindan oder Hexachlorbenzol vollständig vom Aroclortyp 1254 zu trennen. Ähnliche Beobachtungen über den Einfluß von Spuren polarer Lösungsmittel auf säulenchromatographische Systeme liegen auch von anderen Autoren vor (9).

3. Gaschromatographie und chemische Reaktionen

In den folgenden Ausführungen sollen nun am Beispiel einer Käseprobe die Probleme der Interferenzen durch PCB's bei der Rückstandsanalytik chlorierter Pestizide noch weiter dargestellt und einige Wege aufgezeigt werden, die zu deren Lösung beitragen können.

Das oberste Chromatogramm (Nr. 1) in Abbildung 1 entspricht dem, nach der AOAC-Methodik (10) erhaltenen, Käseextrakt; das unterste (Nr. 3) einer Standardlösung von Aroclor 1254. Die Peaks, deren Retentionszeiten in beiden Chromatogrammen genau übereinstimmen, sind von 1—15 numeriert. Peak Nr. 1 interferiert mit β -Hexachlorcyclohexan, Peak Nr. 4 mit o,p'-DDE und Peak Nr. 10 mit p,p'-DDD. Der Peak von p,p'-DDT kann im vorliegenden Fall scheinbar ohne Interferenzen ausgewertet werden. Werden die beiden Chromatogramme

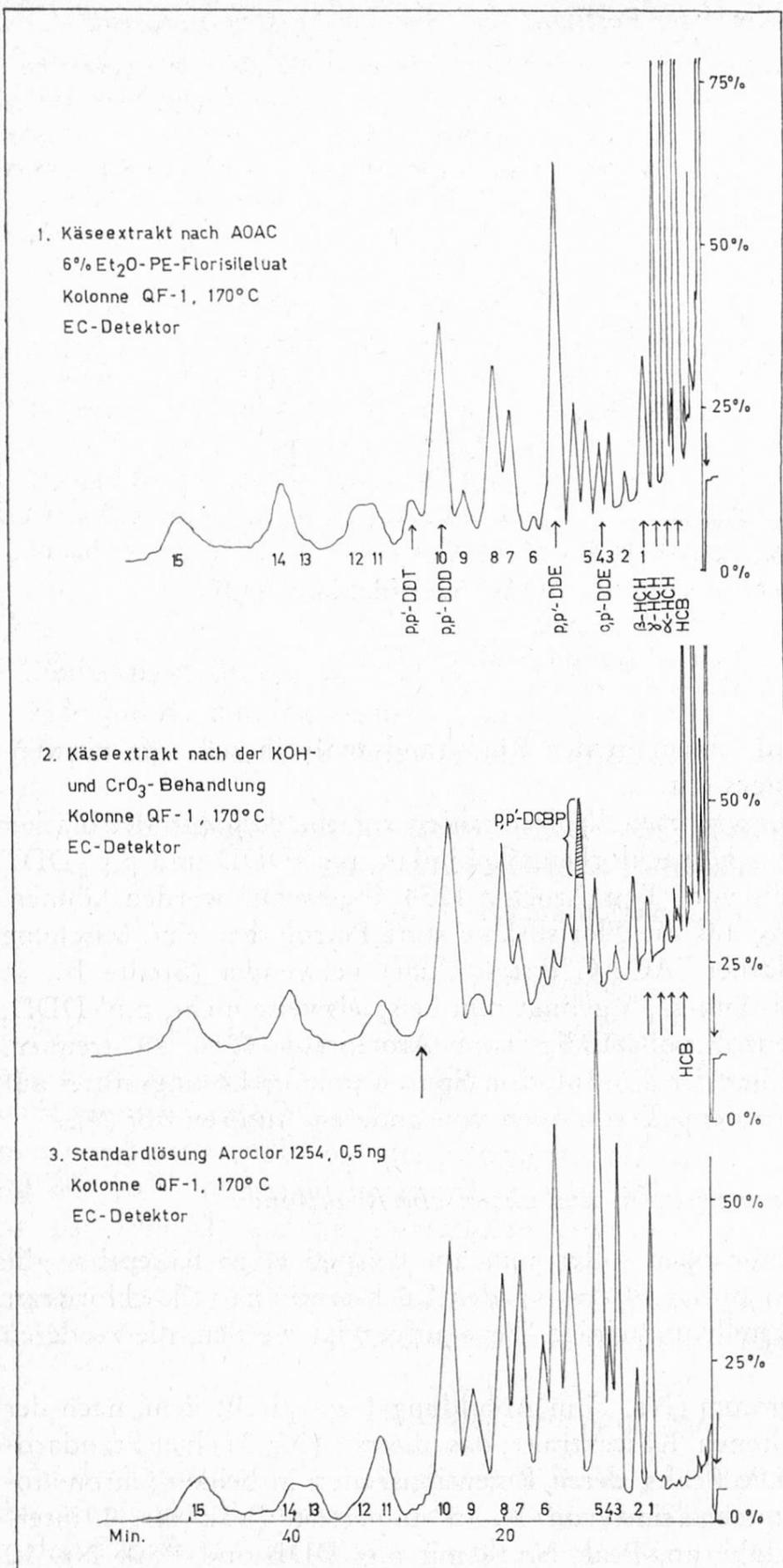


Abbildung 1.
Gaschromatogramm Käse-
extrakt und Standardlösung
Aroclor 1254.

⁶³Ni EC-Detektor bei 330 °C,
Pulsabstand 500 μs, Kolonne
QF-1 5% auf Gaschrom
Q 100/120 bei 170 °C, N₂ =
60 ml/min. (Pye-Unicam
Serie 104); Dosierung: 4 μl
(entspricht 1,2 mg Käse-
fett).

(Nr. 1 und Nr. 3) in Abbildung 1 miteinander verglichen, so fällt auf, daß etliche Peaks im Käseextrakt gegenüber dem Aroclorstandard zu klein sind. Es sind dies beispielsweise die Peaks Nr. 2, 3, 4, 5 und 6. Ein Vergleich mit den Aroclortypen 1260 und 1262 sowie mit Clophen A-60 zeigte andererseits, daß trotz dieser Unterschiede in den Peakhöhen Aroclor 1254 derjenige Typ ist, der, mindestens in bezug auf die Retentionszeiten, am besten mit dem Käseextrakt korreliert. Infolge der verschiedenen Peakhöhenverhältnisse wird die Auswertung erschwert und ist nur approximativ durch Messung der totalen Peakfläche möglich (11).

Zur Abklärung, ob der in Frage stehende Käseextrakt p,p'-DDT und eventuell p,p'-DDD enthält, wurde ein aliquoter Teil des Extraktes einer Alkalibehandlung unterworfen. Aus p,p'-DDT entsteht dabei, unter HCl-Abspaltung in praktisch 100%iger Ausbeute, p,p'-DDE und aus p,p'-DDD wird analog p,p'-DDD-Olefin gebildet (14). PCB's werden dabei nicht angegriffen. Die Auswertung des so erhaltenen Chromatogramms ergab, aus der Zunahme des p,p'-DDE-Peaks berechnet, einen ursprünglichen p,p'-DDT-Gehalt von 10 ppb pro Fett. Die Auswertung des Originalchromatogramms (Nr. 1 in Abbildung 1) lieferte 7 ppb pro Fett. p,p'-DDD-Olefin konnte nach der Alkalibehandlung nicht nachgewiesen werden, woraus geschlossen werden kann, daß der untersuchte Käse weniger als 1 ppb p,p'-DDD pro Fett enthält.

Zur Identifizierung und Quantitierung des dominierenden Peaks im Käseextrakt, dessen Retentionszeit mit derjenigen von p,p'-DDE übereinstimmt, bedienten wir uns der Tatsache, daß p,p'-DDE durch Chromsäure in p,p'-Dichlorbenzophenon überführt wird (12, 13). Wir fanden für diese Reaktion Ausbeuten, die bei ca. 80 % lagen. Aroclor 1254 wird bei der Oxidation leicht angegriffen, wobei die Rückgewinnungen ebenfalls bei 80 % liegen. In einer kürzlich erschienenen Arbeit wurden ähnliche Werte gefunden (23).

In Abbildung 1 ist als Nr. 2 das Gaschromatogramm dargestellt, das nach einer Alkalibehandlung des Extraktes und nachfolgender Chromsäure-Oxidation erhalten wurde. Es ist deutlich ersichtlich, daß die Peaks für α - und γ -Hexachlorcyclohexan verschwunden sind und daß der Peak des β -Isomeren deutlich kleiner geworden ist. Es sind dies diejenigen Substanzen, die bei der Alkalibehandlung in Trichlorbenzole übergehen und in dieser Form quantitativ bestimmt werden können (15). Weiter ist dem Chromatogramm zu entnehmen, daß der p,p'-DDE Peak zum größten Teil fehlt, statt dessen ist jedoch der Peak zwischen dem p,p'-DDE und dem Peak Nr. 5, der an der Stelle von p,p'-Dichlorbenzophenon (= DCBP) eluiert wird, größer geworden. Die quantitative Auswertung ergab, aus der Abnahme des p,p'-DDE-Peaks nach der Oxidation berechnet, einen ursprünglichen p,p'-DDE-Gehalt von 21 ppb pro Fett, wenn für die vorhandene Menge p,p'-DDT korrigiert wird. Aus der Bildung von p,p'-Dichlorbenzophenon erhielten wir 18 ppb pro Fett.

4. Reaktionsgaschromatographie

Beim Vergleich der Chromatogramme 2 und 3 in Abbildung 1 wird leicht festgestellt, daß wohl alle Peaks des Aroclors 1254 im Käseextrakt auftreten, die Verhältnisse der Peakhöhen jedoch verschieden sind. Die Peaks mit eher kurzen Retentionszeiten, die den Substanzen mit kleinerem Chlorgehalt entsprechen, sind verglichen mit den später eluierten Peaks gegenüber dem Aroclorstandard zu klein. Ursachen, die zu einem solchen Bild führen, können durch den verschiedenen raschen Metabolismus der betreffenden Substanzen im Tierkörper (16, 17, 18) erklärt werden.

Zur Bestätigung der Identität der in Frage stehenden Peaks, sowie zu deren Quantifizierung läßt sich die Reaktionsgaschromatographie verwenden (19, 20, 21). Durch katalytische Hydrierung in einem, der gaschromatographischen Kolonne vorgeschalteten Reaktor wird das Gemisch der chlorhaltigen Biphenyle unter geeigneten Bedingungen in das Hauptprodukt Biphenyl überführt (22). Das gebildete Biphenyl wird durch die gaschromatographische Kolonne von eventuellen Begleitstoffen getrennt und mit einem Flammenionisationsdetektor gemessen. Abbildung 2 zeigt das so erhaltene Gaschromatogramm (Chromatogramm Nr. 1) des in Frage stehenden Käseextraktes, der folgendermaßen hergestellt wurde: 2 g Käsefett wurden mit alkoholischer Kalilauge verseift (15), mit Chromsäure oxidiert, der Extrakt über eine kurze Florisilsäule weiter gereinigt und das Petroläthereluat

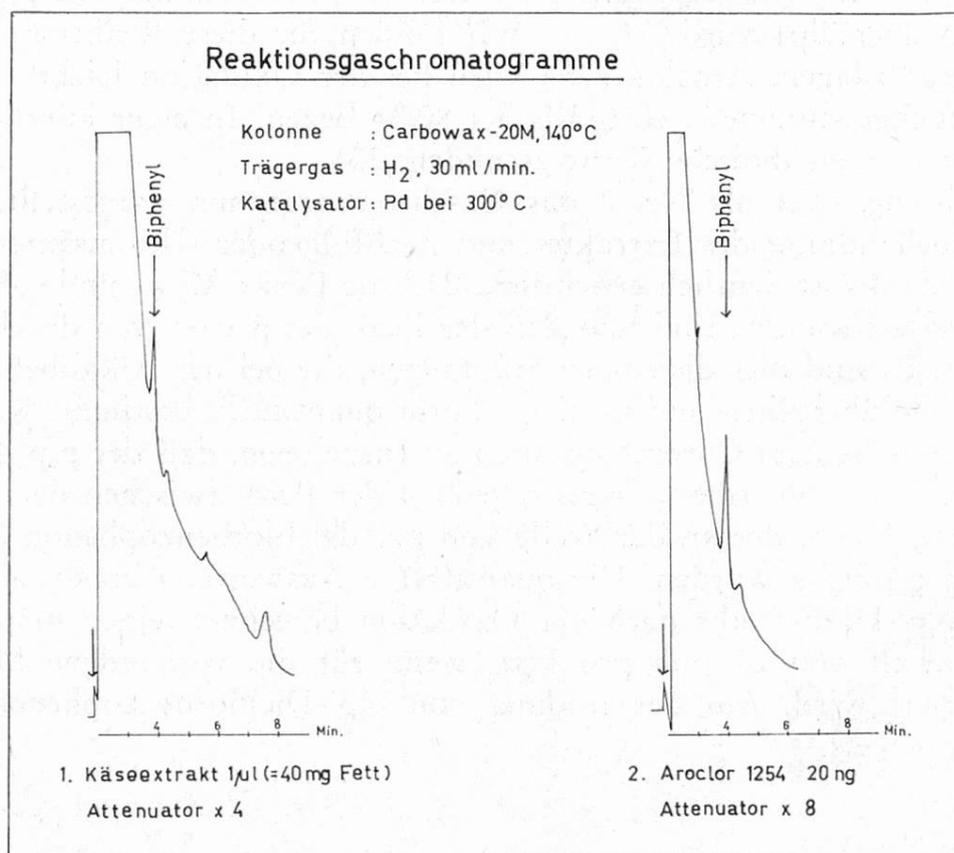


Abbildung 2. Reaktionsgaschromatogramme
Trägergas: 30 ml/min. H₂; Pd-Katalysator nach Lit. (2) bei 300°C;
Kolonne Carbowax-20M 5% auf Chromosorb W HP 80/100; FID.

zusammen mit Heptan auf 50 μ l eingeeengt. Der Vergleich mit dem Chromatogramm Nr. 2 in Abbildung 2 zeigt, daß mit Hilfe der Reaktionsgaschromatographie so noch rund 5 ng Aroclor 1254 bestimmt werden können. Mit den erwähnten Bedingungen (2 g Fett, 50 μ l Endvolumen und 1 μ l Dosierung) ergibt sich eine Nachweisgrenze von ca. 0,05 ppm Aroclor 1254 pro Fett. Für das vorliegende Beispiel ergibt sich, unter Berücksichtigung der Oxidationsverluste, ein Gehalt von rund 0,16 ppm pro Fett, ausgedrückt als Aroclor 1254. Wir sind überzeugt, daß sich diese Art der Dosierung der PCB's gut zur Ueberwachung verschiedener fetthaltiger Lebensmittel bezüglich Rückstände eignen könnte.

5. Dünnschichtchromatographie

Auf Aluminiumoxidplatten mit dem Laufmittel 5 % Benzol in Hexan interferieren beispielsweise p,p'-DDE, Aldrin und Heptachlor mit verschiedenen Aro-

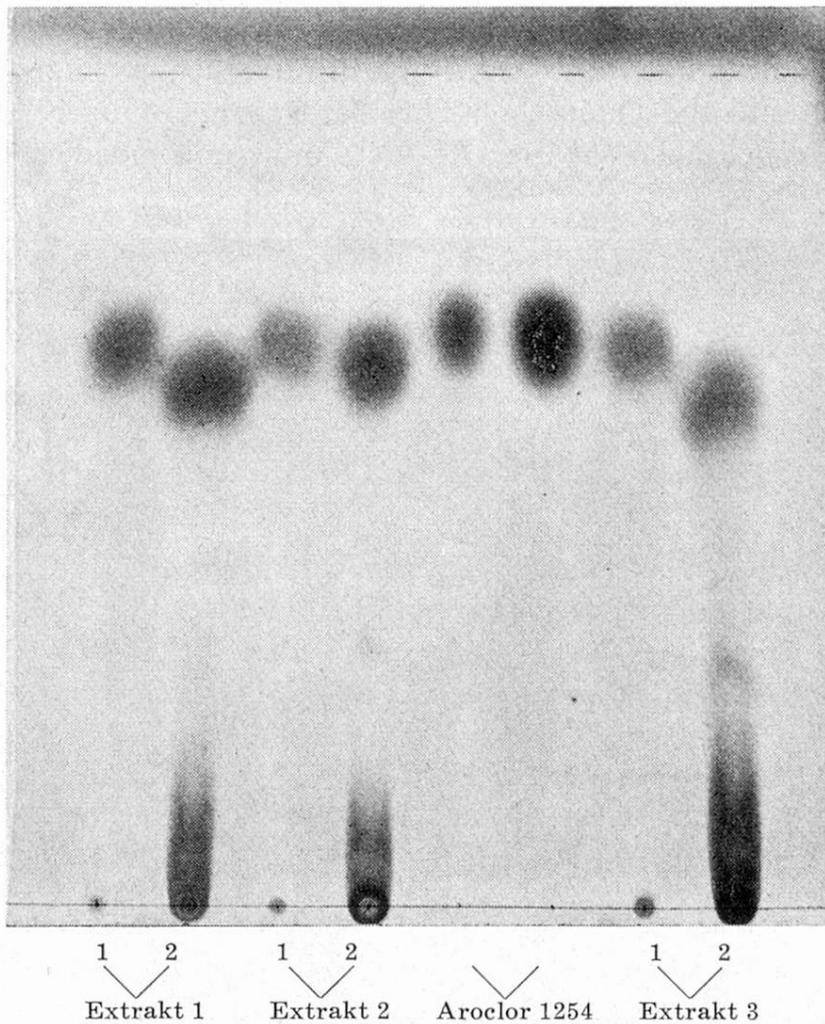


Abbildung 3. Dünnschichtchromatogramm von Kartonextrakten. Aluminiumoxid-Fertigplatte, vorgewaschen mit 50%igem wäßrigen Aceton; Laufmittel: Hexan mit 5% Benzol; Sprühmittel: Silbernitratreagens nach Lit. (10); Extrakt 1 = Graukarton mit ~ 5,5 ppm Aroclor 1254; Extrakt 2 und 3 = Holzkarton mit ~ 4,3 ppm resp. 3,7 ppm Aroclor 1254; als Referenz 500 resp. 1000 ng Aroclor 1254.

- 1: Hexanextrakt verseift und oxidiert
- 2: Hexanextrakt roh

clortypen. Durch eine vorhergehende Oxydation wird aus Heptachlor Heptachlor-epoxid und aus p,p'-DDE Dichlorbenzophenon gebildet, die andere Rf-Werte besitzen (13). Wie aus Abbildung 3 zu entnehmen ist, kommt jedoch der Oxidation mit Chromsäure auch ein erheblicher Reinigungseffekt zu, was in speziellen Versuchen gezeigt wurde. Auf eine weitere Reinigung der Extrakte aus Verpackungsmaterial kann daher verzichtet werden. Als Nachweisgrenze kann pro DC-Fleck mit rund 200 ng Aroclor 1254 gerechnet werden.

Andere Aroclortypen ergeben vorwiegend ebenfalls nur einzelne Flecken, die jedoch einen leicht anderen Rf-Wert als Aroclor 1254 aufweisen können. Um auch mit der Dünnschichtchromatographie verschiedene Aroclortypen zu unterscheiden, verwendeten wir die sogenannte «reversed phase»-DC (24). Aluminiumoxid-Alufolien wurden mit Paraffinöl imprägniert und als Laufmittel diente ein Gemisch von Acetonitril-Methanol-Aceton und Wasser (40 : 40 : 18 : 2).

Gegenüber den in der Literatur (24) verwendeten Kieselgur-G-Platten erwies es sich als zweckmäßig, Aluminiumoxidfolien einzusetzen, da bei diesen der Untergrund nach dem Besprühen mit dem Silbernitratreagens weniger rasch dunkelte. In Abbildung 4 sind die Dünnschichtchromatogramme einiger Aroclortypen abgebildet. Es ist ersichtlich, daß der Rf-Wert mit zunehmendem Chlorgehalt der

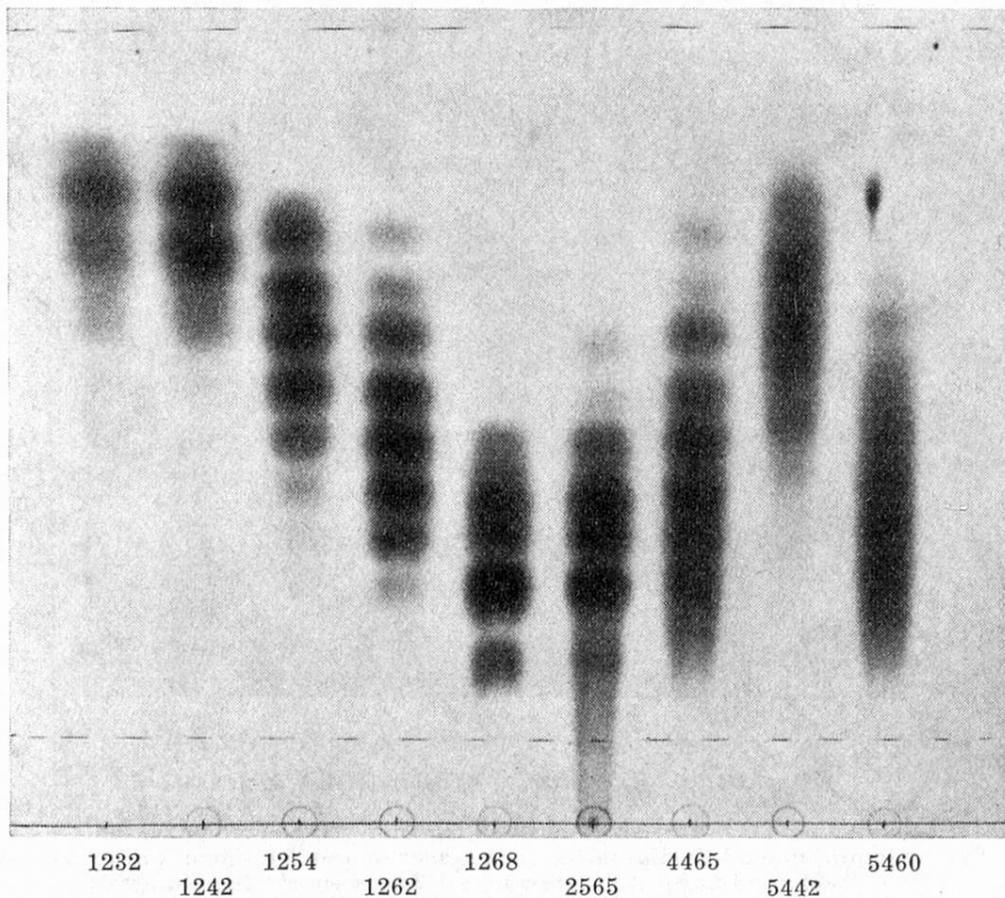


Abbildung 4. Umkehrphasen-Dünnschichtchromatogramme von PCB's Aluminiumoxid-Alufolie, vorgewaschen mit 50%igem wäßrigem Aceton, imprägniert mit Paraffinöl; Laufmittel: Acetonitril-Methanol-Aceton-Wasser (40 : 40 : 18 : 2 v/v) gesättigt mit Paraffinöl; Sprühmittel: Silbernitratreagens nach Lit. (10); aufgetragene Menge: je 10 μ gr.

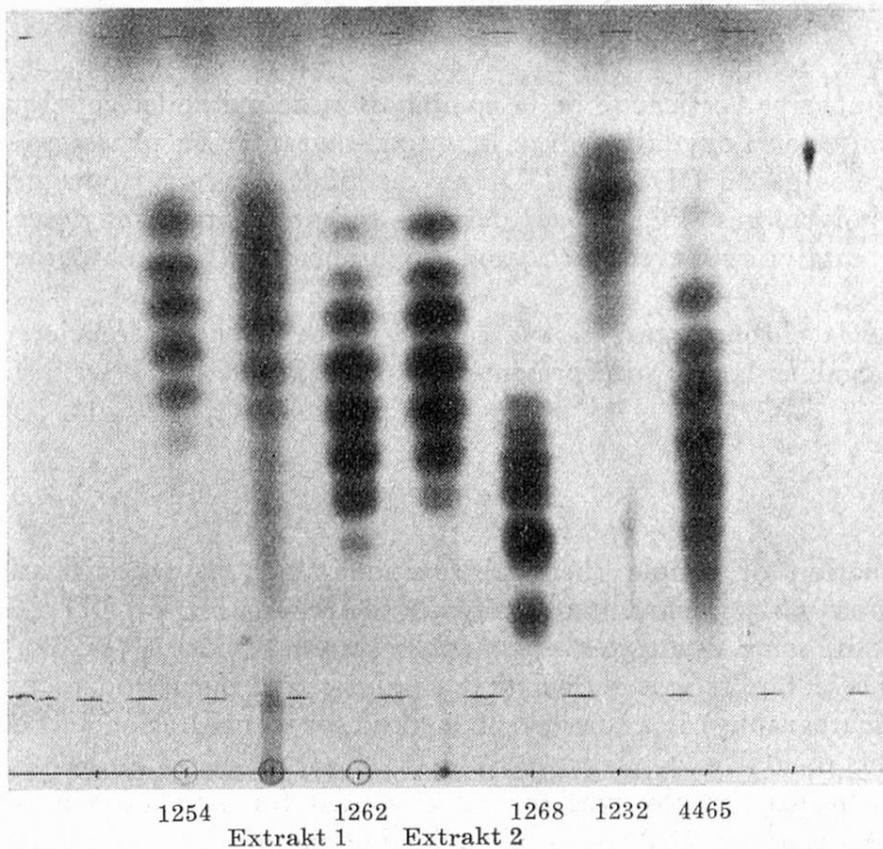


Abbildung 5. Umkehrphasen-Dünnschichtchromatogramm von Verpackungsmaterialextrakten.
 Bedingungen: analog Abb. 4; aufgetragene Menge Aroclor 1254: 3 μ gr, übrige je 6 μ gr.
 Extrakt 1: Karton \sim 5,5 ppm Aroclor 1254.
 Extrakt 2: bedrucktes Verpackungsmaterial ca. 900 ppm Aroclor 1262.

PCB's abnimmt. Auf Grund der verschiedenen Zonen ist eine Zuordnung zu wenigstens einer Gruppe von PCB-Typen ohne weiteres möglich, was in Abbildung 5 veranschaulicht wird. Der Extrakt 1 entspricht eher dem Aroclortyp 1254, Extrakt 2 jedoch eher dem Typ 1262. Als Nachweisgrenze ist mit ca. 500—1000 ng pro Aroclortyp zu rechnen. Wir sind überzeugt, daß auch die beiden erwähnten DC-Systeme zur raschen Identifizierung und Quantitierung der PCB's gute Dienste leisten können.

Zusammenfassung

Am Beispiel einer Käseprobe wurde die Wirksamkeit der Kombination einfacher chemischer Reaktionen, wie Verseifung und/oder Oxidation, mit der Gaschromatographie zur Bestimmung von DDT, DDD und DDE in Gegenwart kleiner Mengen polychlorierter Biphenyle (PCB's) demonstriert. Zur Identifizierung und Dosierung der PCB's diente die katalytische Hydrierung zu Biphenyl (Reaktionsgaschromatographie).

Die Dünnschichtchromatographie wurde zur Differenzierung sowie zur Gehaltsbestimmung verschiedener PCB Typen in Verpackungsmaterial für Lebensmittel verwendet.

Résumé

On a pu démontrer l'efficacité de la combinaison de méthodes chimiques simples telles la saponification et/ou l'oxydation avec la chromatographie en phase gazeuse pour l'identification et le dosage du DDT, du DDD et du DDE dans un fromage de faible teneur en biphényles polychlorés (PCB's): ces derniers furent identifiés et dosés séparément par hydrogénation catalytique avec formation de biphényle (Chromatographie de réaction en phase gazeuse).

On a utilisé la chromatographie sur couche mince pour différencier des divers types de PCB et en évaluer la quantité présente dans le matériel qui a servi à l'emballage des denrées.

Summary

The combination of simple chemical reactions, such as saponification and/or subsequent oxidation with gaschromatography for determination of DDT, DDD and DDE in the presence of small quantities of polychlorinated biphenyls (PCB's) was studied on a sample of cheese fat. It was shown that catalytic hydrogenation to biphenyl (Carbon Skeleton Chromatography) is a convenient method for identification and quantitation even of small amounts of PCB's.

Thin-layer chromatography was successfully used for estimation as well as differentiation of various types of PCB's in food packaging material.

Literatur

1. Schmidt H., Schultz G.: Ann. **207**, 338 (1881).
2. Jensen S.: New Scientist **32**, 612 (1966).
3. Westöö G., Norén K., Andersson M.: Vår föda **1970**, 10.
4. Westöö G., Norén K.: Acta Chem. Scand. **24**, 1639 (1970).
5. Benvenue A., Ogata J. N.: J. Chromatog. **50**, 142 (1970).
6. Leoni V.: J. Chromatog **62**, 63 (1971).
7. Armour J. A., Burke J. A.: J. Ass. Offic. Anal. Chem. **53**, 761 (1970).
8. Holden A. V., Marsden K.: J. Chromatog. **44**, 481 (1969).
9. Zitko V.: J. Chromatog. **59**, 444 (1971).
10. US-Department of Health, Education and Welfare, FDA, Pesticide Analytical Manual Vol. I (1968).
11. Zitko V., Hutzinger O., Safe S.: Bull. Environ. Contam. Toxicol. **6**, 160 (1971).
12. Haller H. L. et al.: J. Am. Chem. Soc. **67**, 1591 (1945).
13. Mulhern B. M., Cromarti E., Reichel W. L., Belisle A. A.: J. Ass. Offic. Anal. Chem. **54**, 548 (1971).
14. Cristol S. J., Hause N. L., Quant A. J., Miller H. W., Eilar K. R., Meek J. S.: J. Am. Chem. Soc. **74**, 3333 (1952).
15. Zimmerli B., Sulser H., Marek B.: Mitt. **62**, 60 (1971).
16. Bagley G. E., Reichel W. L., Cromartie E.: J. Ass. Offic. Anal. Chem. **53**, 251 (1970).
17. Koeman J. H., Tennoever de Brauw M. L., de Vos R. H.: Nature **221**, 1126 (1969).
18. Yoshimura H., Oshima M.: Fukuoka Acta Med. **62** (1971); C. A. **75**, 3563 (1971).
19. Beroza M.: Anal. Chem. **34**, 1801 (1962).

20. Beroza M., Sarmiento R.: Anal. Chem. **38**, 1042 (1966).
21. Asai R. I., Gunther F. A., Westlak W. E., Iwata K.: J. Agr. Food Chem. **19**, 396 (1971).
22. Zimmerli B., Marek B.: Publikation in Vorbereitung.
23. Miles J. R. W.: J. Ass. Offic. Anal. Chem. **55**, 1039 (1972).
24. de Vos R. H., Peet E. W.: Bull. Environ. Contam. Toxicol. **6**, 164 (1971).

M. Erard und *A. Miserez*, Eidg. Gesundheitsamt, Bern

Ueber die Quecksilberbestimmung mit Ditalazon und flammenloser Atomabsorption

Dieser Vortrag wird in einem der nächsten Hefte erscheinen.

Ueber die Bestimmung verschiedener organischer Säuren durch Veresterung an einem Ionenaustauscher

Einführung

Die Fettsäurenverteilung in Fetten wird im allgemeinen durch Gaschromatographie der Ester dieser Fettsäuren bestimmt. Vor einigen Jahren haben wir ebenfalls über eine solche Methode berichtet (1) bei der unter Verwendung von Aethyljodid die entsprechenden Aethylester hergestellt werden. Dieses Verfahren wird jetzt in Liebefeld bei den laufenden Untersuchungen der Fettsäurenverteilung in Butterfett angewandt.

Im Gegensatz zu den Fettsäuren werden wasserlösliche Säuren im allgemeinen durch Papier- oder Dünnschichtchromatographie getrennt und kolorimetrisch oder enzymatisch bestimmt. Es liegen kaum Ansätze vor, die hervorragende Trennleistung der Gaschromatographie und deren Möglichkeiten zur quantitativen Auswertung auch auf die Ester dieser Säuren auszudehnen, vermutlich deshalb, weil die Fettsäuren in den Glyceriden als konzentrierte, leicht extrahierbare Form vorliegen, während die wasserlöslichen Säuren aus den physiologischen Säften zuerst durch geeignete Verfahren abgetrennt werden müssen. Ein weiterer Grund liegt in der geringeren Beständigkeit dieser Säuren, bei denen der Eingriff der Veresterung leicht zu einer mehr oder weniger weitgehenden Veränderung führen kann.

Die vorliegende Arbeit berichtet über eine schonende Veresterungsmethode, bei der stark saure und alkalische Reagenzien vermieden werden. Sie entspricht dem Veresterungsvorgang, den wir für die Fettsäuren eingeführt haben. Die Reaktion



verläuft nicht nur mit den Kaliumseifen der Fettsäuren, sondern auch mit den Salzen anderer Säuren, vorausgesetzt, daß diese Salze in Alkohol genügend löslich sind, was meistens nicht der Fall ist. Wird aber das Kaliumion durch das Kation eines Anionenaustauschers ersetzt, so verläuft die Reaktion ganz allgemein:



wo R eine beliebige Gruppe und A^{+} das Kation des Anionenaustauschers darstellt.

Die Vorteile dieses Verfahrens liegen auf der Hand: Zur Abtrennung der Säuren werden naturgemäß Ionenaustauscher verwendet. Anstatt die am Ionenaustauscher gebundenen Säuren zuerst in Freiheit zu setzen und dann in irgendeiner Art weiter zu verarbeiten, werden diese Säuren am Ionenaustauscher direkt verestert, was eine Verkürzung des Arbeitsganges bedeutet. Ein weiterer Vorteil besteht darin, daß das Problem der Aufarbeitung des Reaktionsgemisches dahin-

fällt; es enthält lediglich die verschiedenen Säureester, in Aethyljodid gelöst, und eine Verunreinigung der Säule des Gaschromatographen ist daher ausgeschlossen.

Es stellt sich jetzt die Frage, inwieweit diese Reaktion für quantitative Bestimmungen geeignet ist. Beim Umsatz der Kaliumseifen der Fettsäuren mit Aethyljodid wurde die Ausbeute bestimmt: sie beträgt durchwegs $90 \pm 1\%$; etwa 10% der Kaliumseifen wird hydrolysiert. Es ist kaum zu erwarten, daß bei den Anionenaustauschersalzen der verschiedensten organischen Säuren die Verhältnisse ebenso einheitlich liegen werden. Man wird höchstwahrscheinlich mit Umrechnungsfaktoren arbeiten müssen.

Weiter hängt die Ausbeute nicht nur vom eigentlichen Veresterungsvorgang ab, sondern auch davon, in welchem Maß jede Säure vom Austauscher aufgenommen wird. Dies hängt wiederum von der verwendeten Technik ab. Es sind drei verschiedene Verfahren möglich:

a) Die Säuren werden in Form von Salzen mit der Cl^- -Form des Anionenaustauschers umgesetzt. Der Vorteil ist, daß nur neutrale Verbindungen zur Reaktion gelangen; der Nachteil, daß man, um einen einigermaßen vollständigen Umsatz zu erzielen, mit einem großen Ueberschuß des Ionenaustauschers arbeiten muß. Dies bedingt bei der anschließenden Veresterung die Verwendung einer entsprechend großen Menge Aethyljodid, das sich mit der überschüssigen Cl^- -Form des Anionenaustauschers zu Aethylchlorid umsetzt, das beim Erhitzen aus dem Reaktionsgemisch entweicht und dabei flüchtige Reaktionsprodukte mitreißen kann. Man kann auch mit einer geringeren Menge des Anionenaustauschers arbeiten und einen möglichst vollständigen Umsatz dadurch zu erzielen versuchen, daß man die Salze der zu untersuchenden Säuren über die Austauschersäule laufen läßt, aber dann stellt sich das zusätzliche Problem der verschiedenen relativen Umsätze dieser Säuren, sowie deren Reproduzierbarkeit.

b) Die Säuren werden als solche mit dem Anionenaustauscher in der OH^- -Form umgesetzt. (Wenn die Säuren nicht bereits in freier Form vorliegen, müssen sie in irgendeiner Art, im allgemeinen mit einem Kationenaustauscher in der H^+ -Form, in die freien Säuren übergeführt werden). Dabei gibt es noch folgende zwei Möglichkeiten:

b¹) Der Umsatz wird mit einem Ueberschuß an Ionenaustauscher in der OH^- -Form ausgeführt. So wird eine quantitative Aufnahme gewährleistet. Der Nachteil ist, daß bei der alkalischen Reaktion des Ionenaustauschers in der OH^- -Form gewisse Säuren nicht stabil sind. Außerdem reagiert der Ueberschuß der OH^- -Form des Austauschers mit dem Aethyljodid unter Bildung von Aethylalkohol, dessen Gegenwart in gewissen Fällen unerwünscht sein kann.

b₂) Diese Nachteile können vermieden werden, indem man den Umsatz mit einem Unterschluß des Anionenaustauschers in der OH^- -Form, also mit einer zur Neutralisation des Säuregemisches ungenügenden Menge, ausführt. Jetzt werden aber die verschiedenen Säuren, entsprechend ihrer Stärke, nicht im gleichen Verhältnis vom Ionenaustauscher aufgenommen, so daß zusätzliche Korrekturfaktoren nötig sind.

2. Modellversuch

Um einen Einblick in diese verschiedenen Verhältnisse zu bekommen, wurde eine Lösung, die je 1 % Milchsäure, Bernsteinsäure, Zitronensäure enthielt, nach den drei verschiedenen Verfahren a), b₁) und b₂) analysiert.

a) 5 ml Säuregemisch wurde mit 0,1-n Natronlauge (20,5 ml) neutralisiert und die Lösung über 15 g Amberlit IRA-410 (Cl⁻-Form, feucht, wie im Handel erhältlich) laufen gelassen. Der beladene Austauscher wurde mit Wasser und Alkohol gewaschen und mit 3 ml absolutem Alkohol + 3 ml Aethyljodid während 4 Stunden auf 60 ° C erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde mit 4 ml Aceton versetzt und von der Reaktionslösung 40 µl eingespritzt.

b₁) und b₂): Für diese beiden Verfahren wird Ionenaustauscher in der OH⁻-Form benötigt. Zu dessen Herstellung wird 1 g Amberlit IRA-410 (Cl⁻-Form) eine Stunde lang mit 200 ml 1-n Kalilauge gerührt, dann mit Wasser neutral gewaschen und mit Aceton getrocknet. Es kann in der OH-Form einige Tage (am besten unter Wasser) aufbewahrt werden; die Kapazität nimmt dabei langsam ab. Zu beachten ist, daß Kohlensäure aus der Luft aufgenommen wird, das bei der Veresterungsreaktion Diaethylcarbonat bildet.

b₁) 5 ml Säuregemisch wurde mit 1,7 g Amberlit IRA-410 (OH⁻-Form) während einer Stunde gerührt. Der beladene Austauscher wurde mit Wasser und Alkohol gewaschen und mit einem Gemisch von 2 ml absolutem Alkohol und 2 ml Aethyljodid auf 60 ° C erhitzt. Nach 2 Stunden wurde eine 10 µl-Probe herausgenommen und in den Gaschromatographen eingespritzt, gleichfalls nach 3¹/₂ Stunden sowie nach 4 Stunden und Abkühlen über Nacht.

b₂) 5 ml Säuregemisch wurde mit 0,4 g Amberlit IRA-410 (OH⁻-Form) während einer Stunde gerührt. Der beladene Austauscher wurde mit Wasser und Alkohol gewaschen und mit 2 ml Alkohol + 2 ml Aethyljodid auf 60 ° C erhitzt. Probenentnahme 20 µl nach 2¹/₂ Stunden; 20 µl nach 4 Stunden und Stehen über Nacht.

Gaschromatographie an Polyaethylenglykolsuccinat, 60—220 ° C, 5 °/Minute; Helium 60 ml/Minute; WL-Detektor. Die Chromatogramme zeigen drei oder vier Peaks, die im genannten Programm bei 112 °, 154 °, 178 ° und 220 ° C während der isothermen Endphase erscheinen. Die Ergebnisse der Auswertung sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Diese Zahlen geben Anlaß zu folgenden Ueberlegungen:

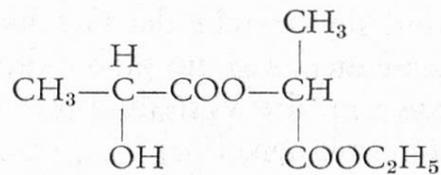
1. Für eine annähernde Bestimmung des Verhältnisses der Säuren sind alle drei Verfahren ohne nähere Prüfung geeignet.

2. Außer den vier bezeichneten Peaks sind in den Chromatogrammen keine Peaks von Bedeutung enthalten. Es fragt sich, woher der Peak 3 stammt. Er kommt nicht vor in einem Blindchromatogramm vom Reaktionsprodukt des unbeladenen Austauschers in der OH⁻-Form mit Aethyljodid, denn dieses zeigt eine

Tabelle 1
Veresterung gleicher Gewichtsteile Milchsäure (88%ig), Bernsteinsäure und Zitronensäure

Umsatz mit Ionenaustauscher	Reaktion mit Aethyljodid bei 60 °C	Peakoberflächen in % der Gesamtoberfläche			
		112 °	154 °	178 °	220 °
a) Na-Salze mit Cl ⁻ -Form des Anionenaustauschers	4 Stunden	28,3 %	43,2 %	7,2 %	21,3 %
b ₁) Säuregemisch mit einem Ueberschuß der OH ⁻ -Form des Anionenaustauschers	1) 2 Stunden	33,1 %	47,3 %	—	19,6 %
	2) 3 ¹ / ₂ Stunden	33,3 %	46,7 %	—	20,0 %
	3) 4 ¹ / ₂ Stunden und Stehen über Nacht	33,0 %	45,0 %	—	22,0 %
b ₂) Säuregemisch mit einem Unterschluß der OH ⁻ -Form des Anionenaustauschers	1) 2 ¹ / ₂ Stunden	28,3 %	31,3 %	6,7 %	33,7 %
	2) 4 Stunden und Stehen über Nacht	24,2 %	30,7 %	6,7 %	38,4 %

fast vollständig glatte Linie. Durch Veresterung der einzelnen Säuren läßt sich feststellen, daß die diesem Peak entsprechende Verbindung aus der Milchsäure stammt. Wahrscheinlich handelt es sich um ein internes Veresterungsprodukt, der Formel



Die entsprechende Säure wird anscheinend durch Alkoholyse zersetzt, wenn der Ionenaustauscher in der OH⁻-Form in Ueberschuß vorhanden ist, da dieser vierte Peak dann in den Chromatogrammen fehlt. Wird die Oberfläche dieses Peaks zu dem des Milchsäureesters addiert, ohne Verwendung von Umrechnungsfaktoren, die die Unterschiede der Molekulargewichte berücksichtigen, so können die Ergebnisse wie folgt zusammengefaßt werden:

	a)	b ₁)	1)	2)	3)	b ₂)	1)	2)
Milchsäureester	35,5 %		33,1 %	33,3 %	33 %		35 %	30,9 %
Bernsteinsäureester	43,2 %		47,3 %	46,7 %	45 %		31,3 %	30,7 %
Zitronensäureester	21,3 %		19,6 %	20 %	22 %		33,7 %	38,4 %

3. Zitronensäure wird vom Austauscher bevorzugt aufgenommen, wenn die Säuren in Ueberschuß vorhanden sind. Dies geschieht auf Kosten der Bernsteinsäure, vermutlich, weil diese die schwächste der drei Säuren ist.

4. Aus der Zunahme der Gesamtoberfläche aller Peaks bei gleichbleibender Einspritzmenge kann man schließen, daß die Reaktion mit Aethyljodid nach 4 Stunden Erhitzen im wesentlichen beendet ist. Was die Ausbeute betrifft, ist das Verfahren b_1 , mit der OH^- -Form des Ionenaustauschers in Ueberschuß, den beiden andern vorzuziehen.

5. Beim Stehen über Nacht tritt eine Zunahme des Zitronensäureesters auf Kosten der beiden andern Ester ein.

6. Bei der eigentlichen Veresterungsreaktion gibt Bernsteinsäure die beste Ausbeute. Diese Erscheinung, daß die schwächeren Säuren leichter und schneller verestert werden als die stärkeren, wurde auch in anderen Fällen beobachtet.

3. Anwendungsbeispiele

Das vorgehend beschriebene Verfahren kann im Prinzip überall eingesetzt werden, z. B. auch bei der Untersuchung von vergorenen und unvergorenen Fruchtsäften. Im Folgenden soll gezeigt werden, wie diese Methode bei der Untersuchung von Milchprodukten angewandt werden kann, und zwar an zwei Beispielen, nämlich bei der Bestimmung der freien Fettsäuren in Butter sowie bei der Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren in Käse.

3.1 Die Bestimmung der freien Fettsäuren in Butter

In normaler Butter treten als Geruchsträger neben dem Diacetyl auch die freien, den Glyzeriden des Butterfettes entsprechenden Fettsäuren auf. Nimmt ihr Auftreten überhand, so sind sie Ursache des Geschmacksfehlers Ranzigkeit. Diese Ranzigkeit wird im allgemeinen nur in globo durch den Säuregrad festgelegt. Es kann aber von Interesse sein, die Verteilung der freien Fettsäuren, in normaler wie in ranziger Butter, zu bestimmen.

3.1.1 Bestimmungsmethoden

Zur Bestimmung kann man Butter in alkoholisch-aetherischer Lösung mit 0,1-n Natronlauge neutralisieren, mit Wasser verdünnen und die wässrige Phase eindampfen, um den Eindampfrückstand dann in irgendeiner Art zu verestern. Die Verwendung eines Ionenaustauschers zur Abtrennung der freien Säuren wurde beschrieben von *Bills, Khatri* und *Day* (2). Nach ihrer Vorschrift werden aber die am Ionenaustauscher haftenden Säuren mit methanolischer Salzsäure verestert, was eine Extraktion mit Aethylchlorid bei 2°C nötig macht. Der Extrakt muß dann unter Rückfluß eingeeengt werden, um Verluste an leicht flüchtigen Estern zu vermeiden. Die Ueberlegenheit der direkten Veresterung ist offensichtlich.

Um eine Verseifung des Butterfettes zu vermeiden, wird man versuchen, die Behandlung mit der OH^- -Form des Anionenaustauschers unter möglichst wasserfreien Bedingungen vorzunehmen. Nach unseren Erfahrungen ist es aber nicht

nötig, die Gegenwart von Wasser streng auszuschließen, da die Verseifung des Fettes bei Zimmertemperatur außerordentlich langsam verläuft. Wichtig ist aber der Ausschluß von Alkohol. Wird der Ionenaustauscher in der OH^- -Form zu einer alkoholischen Lösung des Butterfettes gegeben, so tritt sofort der charakteristische Geruch der Ester der niederen Fettsäuren auf, indem die Umesterung sehr rasch verläuft. Zwar werden die dadurch entstandenen Ester nicht vom Ionenaustauscher aufgenommen, aber die Gefahr einer Verseifung der niedermolekularen Ester erscheint viel größer als die des Butterfettes. Aus diesem Grunde wurde die Behandlung mit dem Ionenaustauscher in alkoholfreiem Aether vorgenommen.

3.1.2 Arbeitsvorschrift

5 g Butterfett werden in 10 ml alkoholfreiem Aether mit 2 g Amberlit IRA-410 (OH^- -Form) während 15 Minuten mit einem Magnetrührer gerührt. Nach dieser Zeit sind fast alle freien Fettsäuren vom Ionenaustauscher aufgenommen worden. Dies geht daraus hervor, daß die über eine Glasfritte filtrierte aetherische Lösung bei erneuter Behandlung mit dem Ionenaustauscher nur noch ganz geringe Mengen Fettsäuren an diesen abgibt, wie aus dem erhaltenen Chromatogramm dieser zweiten Portion Ionenaustauscher beurteilt werden kann. Gleichzeitig erhellt daraus, daß eine Verseifung entweder gar nicht oder nur in ganz geringem Ausmaß stattfindet.

Der abfiltrierte Ionenaustauscher wird mit Aether fettfrei gewaschen und dann mit Aethyljodid während 4—5 Stunden bei 60°C verestert. Von der erhaltenen Esterlösung werden je nach Ranzigkeit 15—50 μl in den Gaschromatographen eingespritzt.

3.1.3 Ergebnisse

Wenn das zur Untersuchung gelangende Butterfett durch einfaches Ausschmelzen und Filtrieren der Butter erhalten wurde, zeigt das Chromatogramm, gegenüber demjenigen der gebundenen Fettsäuren einen Mangel an niederen Fettsäuren. Diese werden nämlich zum Teil im Serum abgepuffert und gelangen deshalb nicht als solche in die Fettphase. Richtiger ist es, die Butter mit 1-n Salzsäure anzusäuern (2 ml pro 100 g Butter) und erst dann das Ausschmelzen vorzunehmen. Wird ein so gewonnenes, nicht ranziges Butterfett dem beschriebenen Verfahren unterworfen, so zeigt das Chromatogramm kaum einen Unterschied gegenüber dem Chromatogramm, das die gesamte Fettsäurenverteilung wiedergibt, abgesehen von einer leichten Erhöhung der Peaks der ungesättigten Fettsäuren. Wird aber eine ranzige Butter in dieser Art behandelt, so zeigt das Chromatogramm — abgesehen von der Gesamtzunahme der Höhe aller Peaks, wie dies dem höheren Säuregrad in ranziger Butter entspricht — eine starke relative Zunahme der C_8 - und C_{10} -Ester. Am stärksten fällt der Unterschied ins Auge beim Caprinester-Peak, der normalerweise etwa gleich groß oder etwa 10 % niedriger ist als der Laurinester-Peak, aber im Chromatogramm der freien Fettsäuren aus ranziger Butter fast doppelt so hoch werden kann.

Weiter zeigen die Chromatogramme aus ranziger Butter einen Peak bei ca. 120 ° C (etwas vor dem Caprylester), dessen Natur noch nicht abgeklärt wurde.

3.2 Die Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren in Käse

Diese Bestimmung wird zur Untersuchung der Ursache von Käsefehlern seit langem in Liebefeld angewandt, indem mit H_2SO_4 angesäuerter, geraspelter Käse mit Wasserdampf destilliert wird. Die in 200 ml Destillat enthaltenen flüchtigen Säuren werden mit 1-n Natronlauge neutralisiert und eingedampft. Der Eindampfungsrückstand wird unter eisgekühltem Aether mit Kaliumhydrogensulfat verrieben und die aetherische Lösung der in Freiheit gesetzten Säuren bei 135 ° C an einer 10 % Sebazinsäure enthaltenden Diaethylhexylsebazat-Säule chromatographiert.

Diese Methode funktioniert im allgemeinen recht gut. Am langwierigsten ist das Eindampfen der neutralisierten Destillate. Außerdem liefert das Verreiben mit Kaliumhydrogensulfat nicht immer reproduzierbare Resultate und stellt eine Operation dar, die der Automation nicht zugänglich ist. Eine Bestimmung der flüchtigen Säuren als Ester hat außerdem den Vorteil, daß die Gaschromatographie an der gleichen Säule erfolgen kann, wie sie für die Bestimmung der Fettsäureester im allgemeinen gebraucht wird. Das Auswechseln der Säulen erübrigt sich dadurch, eine Tatsache, die sich in der Praxis dahin auswirken kann, daß ein Gaschromatograph für einen andern Zweck frei wird.

3.2.1 Die Beladung des Ionenaustauschers

Von den erwähnten Ausführungsformen kommt die Variante a) nicht in Frage, wegen der Bildung von Aethylchlorid aus überschüssiger Cl^- -Form des Ionenaustauschers, die zu Verlusten der flüchtigen Ester führen würde. Die Variante b₁) ist ebenfalls auszuschließen wegen der Bildung von Aethylalkohol, der auf den normalerweise für Esteranalysen verwendeten Säulen von Aethylacetat kaum getrennt wird. Es bleibt also als einzige Möglichkeit die Variante b₂). Zu erwarten war, daß bei dieser Ausführungsform die etwas stärkeren niedermolekularen Fettsäuren den Ionenaustauscher relativ etwas stärker beladen als die höhermolekularen. Dieses Verhalten war zu überprüfen.

Die 200 ml Wasserdampfdestillat der zu untersuchenden Käsemuster enthalten meistens zwischen 0,5 und 3 Millimole flüchtige Säuren: Essigsäure, Propionsäure und Buttersäure. Iso-Valeriansäure und Capronsäure kommen nur in selteneren Fällen vor. Da der verwendete Ionenaustauscher in Unterschluß vorhanden sein muß, liegt es nahe, dessen Menge bei 0,4 millival, etwas niedriger als die untere Grenze der im Destillat enthaltenen Säuren, festzulegen. Diese 0,4 millival entsprechen 0,2 g trockenem Amberlit IRA-410 in der OH^- -Form. Als Prüfungsmische wurden Lösungen von Essigsäure, Propionsäure und Buttersäure in verschiedenen Verhältnissen — insgesamt 1,5 Millimol Säure in 200 ml Wasser enthaltend — verwendet. Die Wasserdampfdestillate enthalten daneben noch Spuren von anderen flüchtigen Substanzen, aber es ist kaum anzunehmen, daß diese einen nennenswerten Einfluß auf die Ergebnisse ausüben, so daß aus dem Verhalten der Prüf-

gemische ohne weiteres auf das der Wasserdampfdestillate geschlossen werden darf. Wichtig ist es aber, die Verdünnung auf 200 ml beizubehalten.

Ein solches Prüfgemisch wurde mit 0,2 g Amberlit IRA-410 (OH⁻-Form) während einer Stunde gerührt. Diese Reaktionsdauer ist, bei der geringen Säurekonzentration, notwendig, um den Ionenaustauscher zu sättigen. Dann wurde vom Ionenaustauscher abfiltriert und das Filtrat mit einer frischen Portion Ionenaustauscher wiederum eine Stunde gerührt. Diese Operationen wurden noch mehrmals wiederholt; der pH-Wert der Lösung wurde dabei laufend verfolgt.

Entsprechend der vorhandenen Säuremenge sollte nach vier Behandlungen der Ionenaustauscher im Ueberschuß vorhanden sein und die Lösung neutral oder alkalisch werden. In Wirklichkeit waren die beobachteten pH-Werte

nach der ersten Behandlung	ca. 3,6
nach der zweiten Behandlung	ca. 3,8
nach der dritten Behandlung	ca. 4,1 und
nach der vierten Behandlung	ca. 5,0

Die Chromatogramme der Veresterungsprodukte zeigen, daß die Neutralisation der dritten Ionenaustauscherportion unvollständig ist, indem die Oberfläche des Aethylacetat-Peaks durch die Gegenwart von Aethylalkohol nicht mehr richtig bestimmt wird. Im Chromatogramm der vierten Behandlung wird der Alkohol-Peak sichtbar, und dieses Chromatogramm ist für die Auswertung vollständig unbrauchbar.

Die Erfahrung hat gezeigt (siehe Tabelle 2), daß das Chromatogramm der dritten Behandlung, wenn es mit denen der ersten und zweiten Behandlung kombiniert wird, noch einigermaßen richtige Gesamtwerte liefert: Der Aethylacetat-peak hat die Tendenz, etwas zu niedrig zu werden, während der Propionester-peak zu hoch ausfällt. Wird nur das Chromatogramm der ersten Behandlung berücksichtigt, so besteht die umgekehrte Tendenz. Die Abweichungen bleiben etwa im Rahmen von 4 %, was für die Beurteilung der Käsefehler in der Praxis durchaus genügt.

3.2.2 Die Veresterungsbedingungen

Der beladene Ionenaustauscher muß jetzt mit einer geeigneten Menge Aethyljodid in solcher Art umgesetzt werden, daß keine Verluste der äußerst flüchtigen Ester zu befürchten sind. Dazu erscheint es wünschenswert, die Reaktion in ziemlich großer Verdünnung in einem geeigneten Lösungsmittel durchzuführen. Nahe liegend ist es, das Aethyljodid selber dafür zu verwenden; dies ist aber nicht statthaft, da in diesem Fall der Aethylacetat-Peak als Aufsitzer auf dem viel größeren Aethyljodid-Peak erscheint und die quantitative Auswertung keine richtigen Werte liefert. Das Aethyljodid darf deshalb nur in einer solchen Menge verwendet werden, daß ein möglichst vollständiger Umsatz mit dem Ionenaustauscher gewährleistet ist. 0,1 ml Aethyljodid, 1,2 Milliequivalente entsprechend, erscheint eine angemessene Menge zum Umstanz der 0,4 Milliequivalente Ionenaustauscher.

Die Wahl eines geeigneten Lösungsmittels ist ziemlich begrenzt, da es auf der Säule möglichst frühzeitig erscheinen muß, andererseits aber doch nicht zu tief sieden darf. Da die Säule polar ist, führt dies zur Wahl eines unpolaren Lösungsmittels; Versuche mit Hexan und Isopropylaether zeigten aber, daß solche unpolare Lösungsmittel aus dem Ionenaustauscher selektiv die weniger polare, höhermolekulare Ester herauslösen, so daß der Wert für Aethylacetat zu niedrig erscheint. Als einigermaßen geeignetes Lösungsmittel erwies sich Aceton: Es erscheint auf der PEGA-Säule vor dem Aethyljodid, siedet aber andererseits hoch genug, um mehrstündiges Erhitzen auf 50 ° C zu ermöglichen.

Die Verwendung von Aceton als Lösungsmittel führte zu befriedigenden Ergebnissen; sie hatte nur einen Nachteil: Der Ionenaustauscher enthält immer Spuren Wasser, das auch durch Trocknen im Vakuum nicht genügend entfernt werden kann. Im Chromatogramm mit dem Wärmeleitfähigkeitsdetektor erscheint dieses Wasser in Form einer Wasserstufe. Dieses Wasser muß nach jeder Chromatographie durch Ausheizen der Säule entfernt werden, sonst erscheint die Wasserstufe in den nächsten Chromatogrammen immer früher und sie wird immer höher. Dieses Ausheizen der Säule verlängert die Chromatographie.

Als Ausweichmöglichkeit bietet sich der Flammenionisationsdetektor an, wo diese Stufe nicht sichtbar ist. Versuchsweise wurde aber auch die Veresterung ohne Lösungsmittel angeführt und zwar in folgender Art: Der beladene Austauscher wurde im Veresterungsröhrchen mit Wasser und Aceton gewaschen und der Ueberschuß Aceton mit der GC-Spritze weggesaugt. Etwa 0,1 ml Aceton bleibt am Ionenaustauscher haften. Dann wird 0,1 ml Aethyljodid zugegeben und das Röhrchen mit einem Korkzapfen sorgfältig verschlossen. Anschließend wird 3 Stunden auf 55 ° C erhitzt.

3.2.3 Die Gaschromatographie der Produkte und die Auswertung

Die Trennung des Aethylacetats vom Aethyljodid gelingt umso besser, je niedriger die Temperatur ist, bei der chromatographiert wird. Deshalb wird man vorzugsweise isotherm bei etwa 40 ° C arbeiten, bis der Aethylacetat-Peak erscheint, um dann mit einer Temperatursteigerung von 5 ° C pro Minute zu programmieren. Handelt es sich nur um eine Bestimmung bis zur Buttersäure, so kann alles auch isotherm bei 40 ° C chromatographiert werden.

Von den beiden für die Chromatographie der Fettsäuren geeigneten stationären Phasen, Polyäthylenglykolsuccinat (PEGS) und Polyäthylenglykoladipat (PEGA) ist PEGA vorzuziehen, weil der Acetonpeak auf dieser Säule vor dem Aethyljodidpeak erscheint und deshalb die Veresterung in Acetonlösung möglich ist, ohne daß der Aethylacetatpeak als Aufsitzer auf dem Acetonpeak erscheint. Auf der PEGS-Säule hingegen fallen Aceton und Aethyljodid zusammen. Außerdem werden auf der PEGA-Säule die beiden iso-Valeriansäuren besser vom Buttersäureester getrennt.

Die Ergebnisse der Untersuchung von zwei Prüfgemischen, B und D, sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Jedes Säuregemisch wurde, wie bereits beschrieben,

Tabelle 2 Veresterung von Prüfgemischen

Prüfgemisch	End-pH-Wert	Essigsäure %	Propionsäure %	Buttersäure %	Chromatographie
B		38,6	56,9	4,5	
B ₁	3,6	39,6 40,0 38,6 } ϕ 39,4	56,0 55,6 56,8 } ϕ 56,1	4,4 4,4 4,6 } ϕ 4,5	auf PEGS
B ₁ + B ₂	3,8	39,2 39,5 38,5 } ϕ 39,1	56,5 56,0 56,9 } ϕ 56,4	4,3 4,5 4,6 } ϕ 4,5	
B ₁ + B ₂ + B ₃	4,1	37,9 36,9 } ϕ 37,4	57,8 58,8 } ϕ 58,3	4,3 4,3 } ϕ 4,3	
B ₁ B ₁ + B ₂ B ₁ + B ₂ + B ₃		39,5 37,8 36,8	56,0 57,5 58,8	4,5 4,7 4,4	auf PEGA
D		41,8	39,7	18,5	
D ₁		41,6 41,0 } ϕ 41,3	38,9 39,7 } ϕ 39,3	19,5 19,3 } ϕ 19,4	auf PEGS
D ₁ + D ₂		41,7 41,1 } ϕ 41,4	39,7 40,5 } ϕ 40,1	18,6 18,4 } ϕ 18,5	
D ₁ + D ₂ + D ₃		41,6 41,4 } ϕ 41,5	40,7 40,9 } ϕ 40,8	17,7 17,7 } ϕ 17,7	

sukzessiv mit mehreren 0,2 g-Portionen Ionenaustauscher behandelt und die beladenen Ionenaustauscher mit je 0,1 g Aethyljodid ohne Lösungsmittel verestert.

In der ersten Kolonne der Tabelle ist angegeben, um welche Portionen es sich handelt; die Portionen 2 und 3 wurden naturgemäß mit den vorhergehenden Portionen rechnerisch kombiniert, damit die Ergebnisse der Realität einer Beladung mit veränderlichem Unterschuß an Ionenaustauscher entsprechen.

Die zweite Kolonne enthält für ein Säuregemisch die beobachteten End-pH-Werte bei der Beladung. In der dritten, vierten und fünften Kolonne sind die Sollwerte für den Gehalt an Essigsäure, Propionsäure und Buttersäure angegeben sowie die gefundenen Werte: Letztere wurden durch Umrechnen aus den Ester-

peak-Oberflächen mittels der entsprechenden Faktoren (1,06 für Propionsäure, 1,11 für Buttersäure) erhalten. Die Ergebnisse von Doppelbestimmungen sind mit Akkoladen zusammengefaßt.

Wie ersichtlich, ist die Uebereinstimmung recht befriedigend. Zu beachten ist allerdings, daß hier jeweils 1,5 Millimol Säure mit einem variablen Unterschuß an Ionenaustauscher behandelt wurde. In der Praxis kommen aber, wie erwähnt, oft viel niedrigere Säure-Gehalte im Destillat vor, und es ist zu erwarten, daß bei der entsprechend größeren Verdünnung die Beladung des Ionenaustauschers weniger gut verläuft und die Abweichungen größer werden.

Literaturverzeichnis

1. *Hulstkamp J., Stampbach H.*: Diese Mitt. **61**, 388, (1970).
2. *Bills D. D., Khatri L. L., Day E. A.*: J. Dairy Sci. **46**, 1342, (1963).

P. Saint-Hilaire et J. Solms, Institut de Chimie Agricole de l'Ecole Polytechnique Fédérale, 8006 Zurich

Quelques aspects de la congélation et lyophilisation du jus d'orange

La lyophilisation ou cryodessiccation réunit dans un seul procédé les techniques de la congélation et du séchage. Après congélation de l'eau libre contenue dans le système envisagé, celui-ci est maintenu sous vide à une température au-dessous de son point critique de façon à faciliter la sublimation de la glace. La cryodessiccation exige donc une attention spéciale accordée tant à la congélation qu'au séchage.

Alors que les facteurs dépendant uniquement de l'appareil ont fait l'objet d'études très poussées (1, 3, 4, 5, 6), ceux dépendant du produit ont été souvent négligés. Aussi, le produit constituera-t-il le noyau de cette étude. Nous avons choisi, à cet effet, les jus d'orange comme exemple. Sa composition chimique, comme le montre le tableau 1 en fait un produit particulièrement difficile à lyophiliser à cause de sa forte teneur en sucres et acides organiques. Cependant, nous considérerons uniquement l'influence de l'état physique du système sur la lyophilisation.

Tableau 1. Composition approximative des jus d'orange

Substances	Teneur en % de la matière sèche
Sucres	76
Acides organiques	9,6
Acides aminés	5,4
Substance minérales	3,2
Vitamines	2,5
Lipides	1,2
Autres	2,1

Pendant la congélation normale du jus, dans un bac de réfrigération ou dans le lyophilisateur, il se produit une ségrégation de la matière sèche. Le produit devient alors hétérogène. Pour mettre en évidence cette hétérogénéité, nous avons eu recours à plusieurs méthodes dont la mesure de la concentration de différentes couches après congélation et l'étude de la texture du jus congelé. Le tableau 2 montre l'augmentation de la concentration de la couche superficielle.

Tableau 2. Ségrégation de la matière sèche

Épaisseur du bloc congelé 0,5 cm
 Vitesse de congélation 6 ° C/minute
 Température finale - 60 ° C

Concentration initiale en ° Brix	Concentration après congélation de la couche superficielle en ° Brix
12	33,5
25	43,5
35	50
42	56,5

Cette hétérogénéité du produit congelé provoque sa désagrégation pendant la lyophilisation et facilite le phénomène de «puffing». Il se forme alors à la surface une couche compacte, comme le montre l'étude de la structure au microscope électronique (figure 1). Ces difficultés rendent presque impossible la cryodessiccation d'un jus très concentré. Certes, avec une congélation plus rapide, nous pouvons empêcher cette ségrégation, mais il est connu qu'une telle congélation diminue la vitesse de séchage à cause de la formation des cristaux de glace trop

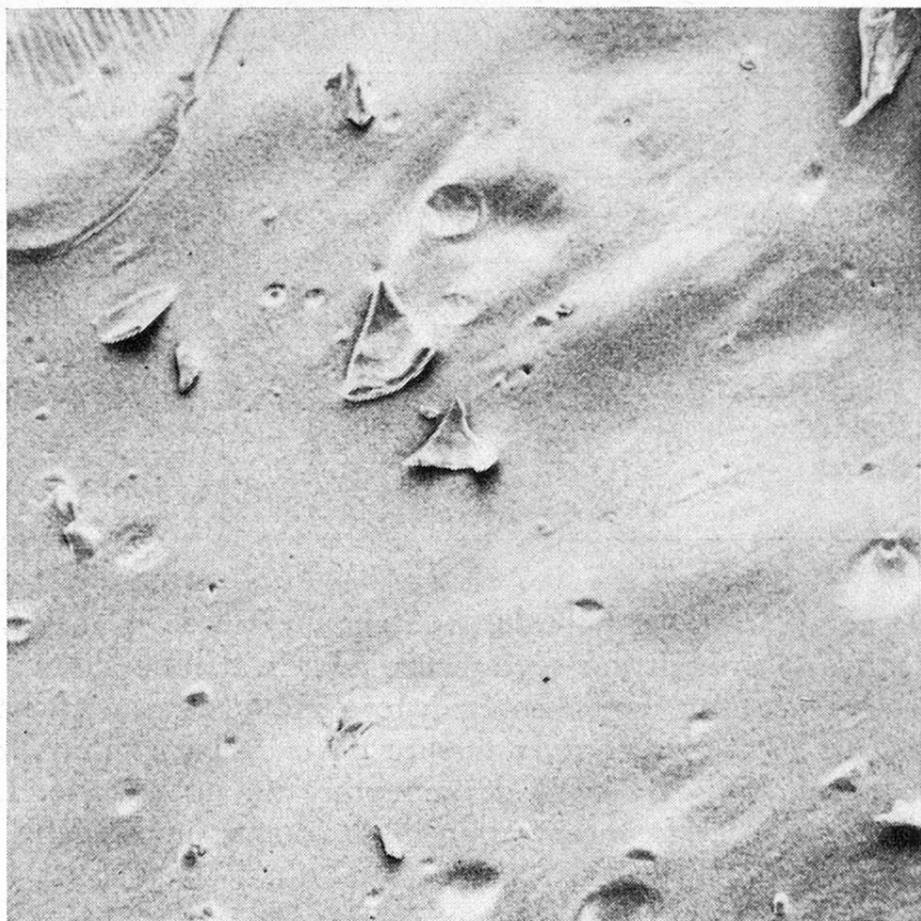


Figure 1. Surface d'un jus d'orange (20 ° Brix) lyophilisé après une congélation normale, prise de vue au microscope électronique, agrandissement 680x.

petits. Nous avons plutôt pensé à une méthode de congélation permettant d'éliminer la ségrégation de la matière sèche et de profiter des avantages de la congélation lente. Nous avons eu recours à une congélation avec « cristallisation dirigée » qui se fait par étapes, en portant le produit d'abord à -10°C , puis à -20°C et ensuite un peu au-dessus de sa « température critique de sublimation ». Pendant ce temps, le produit est soigneusement remué. Le mélange ainsi obtenu est enfin soumis à une congélation normale qui se poursuit, suivant le cas, jusqu'à -75°C environ. Cette méthode de congélation permet d'éviter la formation de zones hétérogènes. Contrairement au « slush freezing » (7), le produit se détache facilement du récipient et donne l'aspect d'une agglomération de petits grains. Elle diffère aussi du froisonnement proposé par *Jabarit* (2); car elle ne comporte pas d'introduction d'air et par conséquent pas d'augmentation de volume. L'étude de la structure d'un jus ainsi lyophilisé au microscope électronique (figure 2) permet de voir une surface très poreuse.

Il paraît évident que toutes ces différences de structure doivent influencer la perméabilité du produit sec, qui semble finalement constituer le facteur primordial déterminant le séchage. La détermination de la perméabilité du jus lyophilisé après les deux méthodes de congélation met en évidence la différence qui les

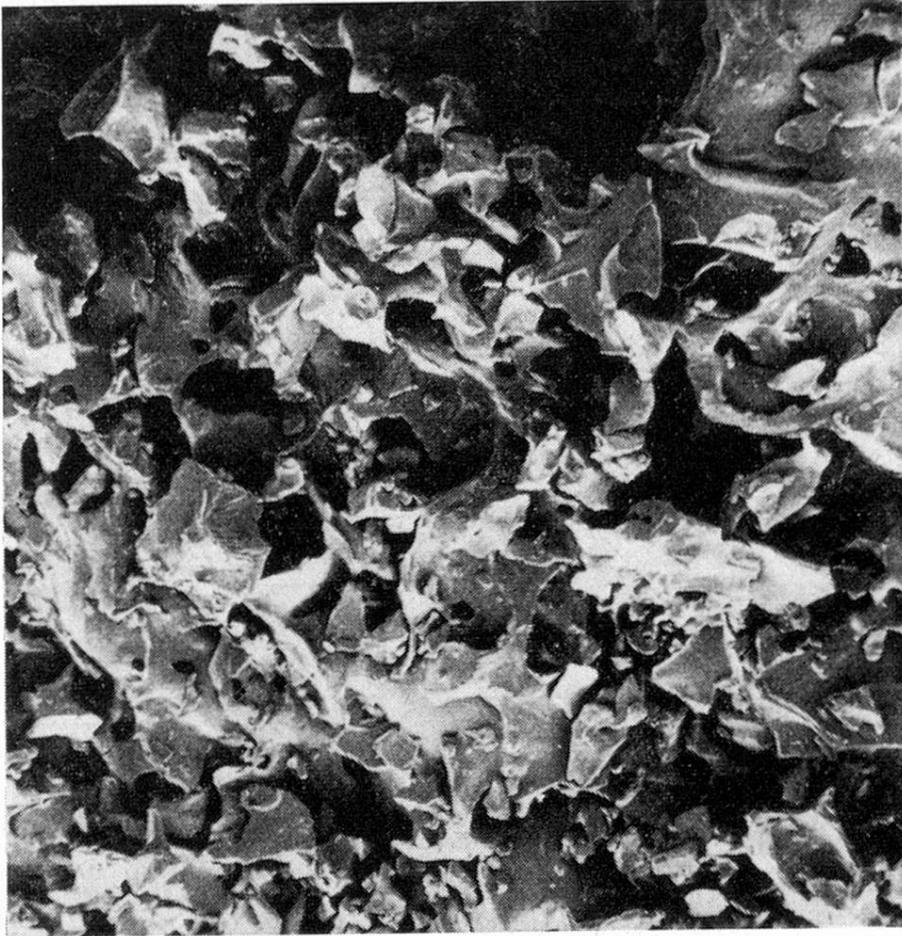


Figure 2. Surface d'un jus d'orange (20 ° Brix) lyophilisé après congélation avec «cristallisation dirigée», prise de vue au microscope électronique, agrandissement 646x.

sépare. Pour cela, nous avons modifié la méthode décrite par *Quast et Karel* (7, 8). Le tableau 3 montre quelques-uns des résultats obtenus.

Tableau 3. Perméabilité du jus d'orange lyophilisé

Concentration en ° Brix	Congélation	Perméabilité g/sec. cm. mmHg $\times 10^{-4}$
12	normale	3
15	normale	1,4
20	normale	0,92
20	dirigée	2,7
36	dirigée	2,1

Ces résultats indiquent clairement l'efficacité du traitement utilisé. Ainsi, nous avons pu tripler la perméabilité d'un jus de 20 ° Brix.

Si nous comparons enfin les courbes de lyophilisation de deux jus d'orange de 33 ° Brix congelés différemment, l'avantage de la congélation avec «cristallisation

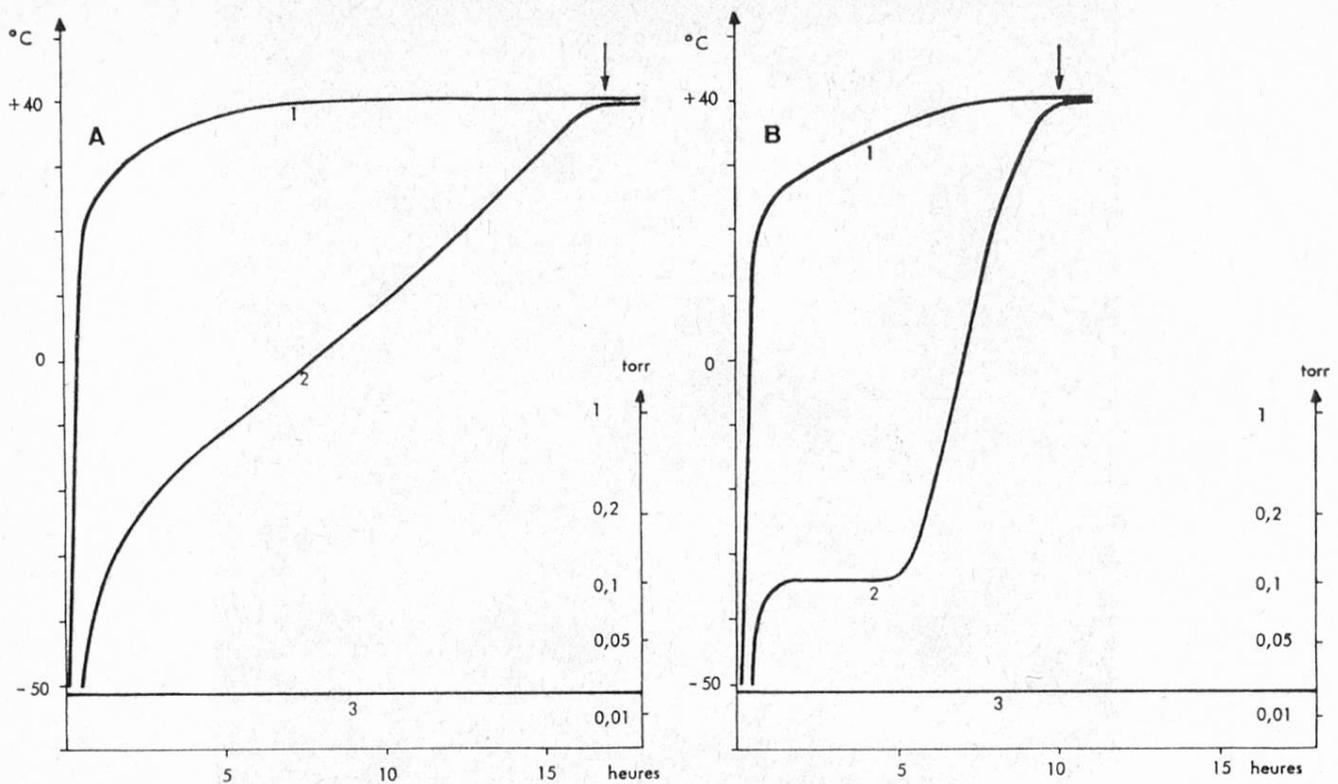


Figure 3. Courbes de lyophilisation d'un jus d'orange (33 ° Brix) congelé normalement (A) et congelé avec «cristallisation dirigée» (B).

- 1: Température de la plaque chauffante
- 2: Température du produit
- 3: Pression dans l'enceinte
- ↓: Fin du séchage

dirigée» saute aux yeux (figure 3). Cette dernière méthode nous a aussi permis de lyophiliser un jus de 50 ° Brix sans difficulté.

Nous trouvons donc que la congélation avec «cristallisation dirigée» améliore considérablement le comportement d'un produit liquide pendant la cryodessiccation. Elle provoque une formation homogène des cristaux de glace et donne une structure poreuse plus efficace pour la sublimation.

Résumé

Des échantillons de jus d'orange concentré, congelés normalement et sous agitation (cristallisation dirigée), ont été comparés par rapport à la lyophilisation. Le produit congelé avec «cristallisation dirigée» était plus homogène, avait une surface plus poreuse et une plus grande perméabilité. La vitesse de lyophilisation de ce produit était deux fois plus grande que celle du jus congelé normalement.

Zusammenfassung

Konzentrierter Orangensaft wurde unter normalen Bedingungen sowie unter ständigem Rühren tiefgefroren. Durch das Rühren wurde eine homogene Eiskristallbildung erzielt. Beide Proben wurden gefriergetrocknet. Das Muster mit der homogenen Eiskristallbildung

zeigte eine poröse Oberfläche, eine größere Permeabilität und konnte doppelt so rasch getrocknet werden als das «normale» Muster.

Bibliographie

1. *Hatcher J. D. et Sunderland J. E.*: J. Fd. Sci. **36** 899 (1971).
2. *Jabarit A.*: Ind. Alim. Agr. **86** 1229 (1969).
3. *Kan B. et de Winter F.*: Fed. Technol. **22** 1269 (1968).
4. *Lorentzen J.*: dans Atlas Freeze-drying International Symposium, Copenhagen 1970.
5. *Mellor J. D.*: C.S.I.R.O. Food Pres. Quart. Vol. 22 No 2 (1962).
6. *Oetjen G. W. et Eilenberg H. J.*: dans Aspects Thermodynamiques de la Lyophilisation, Symposium, Inst. Int. Froid, Lausanne 1969.
7. *Quast D. G. et Karel M.*: J. Fd. Sci. **33** 170 (1968).
8. *Saint-Hilaire P. et Solms J.*: Publication en préparation.

J. Baumgartner und *H. Neukom*, Agrikulturchemisches Institut der Eidgenössischen technischen Hochschule, Zürich

Ueber die Oxydierbarkeit einiger natürlich vorkommender Phenole

Einleitung

Wird pflanzliches Gewebe durch mechanische Einwirkung zerstört, so tritt bekanntlich in Gegenwart von Luft O₂ eine rasche enzymatische Oxydation der Phenole zu komplizierten, in ihrer Struktur noch weitgehend unbekanntem, braun-gefärbten Polymerisationsprodukten ein. Dieses sog. enzymatische Braunwerden (1) spielt insbesondere bei der Verarbeitung von Früchten und Gemüse eine große Rolle, die geschmacklichen und farblichen Veränderungen führen dabei meistens zu Qualitätseinbußen. Andererseits können Oxydationen von Phenolen auch erwünscht sein, so z. B. bei der Tee- und Tabakfermentation (1).

Der großen chemischen, biochemischen und technologischen Bedeutung der Oxydation pflanzlicher Phenole steht das geringe Wissen über die Oxydierbarkeit der verschiedenen Phenole gegenüber. Das einzige genaue Maß für die Oxydierbarkeit eines Phenols, das kritische Oxydationspotential nach *Fieser* (2), ist praktisch für alle wichtigen Pflanzenphenole unbekannt. Es ist mit wenigen Ausnahmen nicht möglich, das Normalpotential eines Phenols zu messen, da Normalpotentiale nur von reversiblen Reaktionen gemessen werden können.

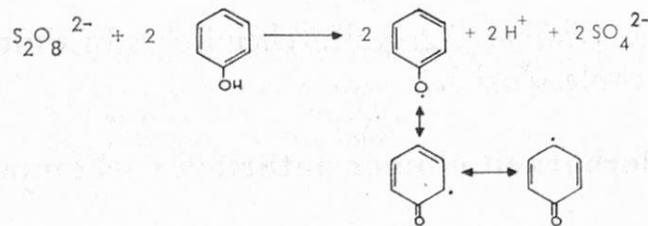
Um die relative Oxydierbarkeit eines Phenols zu studieren, wurden die Phenole unter genau denselben Bedingungen einem Oxydationsmittel unterworfen, dessen Normalpotential genügend hoch ist und das zudem keine basischen oder

sauren Eigenschaften aufweist. Als Oxydationsmittel wurde Natriumpersulfat verwendet.

Wird ein Phenol oxidiert, so wird die Reaktionslösung gewöhnlich langsam braun. Es gilt deshalb streng zwischen zwei Kriterien für die Oxydierbarkeit zu unterscheiden: 1. dem Oxydationsgrad, d. h. dem tatsächlichen Verbrauch an Oxydationsmittel und 2. dem Bräunungsgrad, d. h. der spektralen Eigenschaft der Oxydationsprodukte. Für theoretische Betrachtungen ist nur der Oxydationsgrad brauchbar. Den Lebensmittelchemiker wird hingegen interessieren, welche Phenole besonders leicht tiefbraun gefärbte Produkte bilden und ob zwischen dem Oxydationsgrad und dem Bräunungsgrad ein Zusammenhang besteht.

Stöchiometrisch oxidiert das Persulfation zwei Moleküle des Phenols zu zwei Phenoxyradikalen. Dabei entstehen zwei Protonen sowie zwei Sulfationen (Abbildung 1). Das Phenoxyradikal, dessen radikalisches Elektron delokalisiert ist, stabilisiert sich durch Dimerisierung an den Zentren hoher Spindichte. Das Produkt ist wiederum ein Phenol, welches weiter dehydriert werden kann.

Abbildung 1



Anstelle der aufwendigen Messung der Abnahme der Persulfatkonzentration oder der praktisch undurchführbaren Messung der Abnahme der Phenolkonzentration wurde mittels einem pH-Stat automatisch die Zunahme der Protonenkonzentration bei pH 7,00 aufgezeichnet. Sofern kein Protonenverlust irgendwelcher Art eintritt, entsteht pro oxydiertes Phenol ein Proton, welches mit Natronlauge titriert werden kann. Die Geschwindigkeit der Zunahme der Protonenkonzentration ist somit ein Maß für die Oxydationsgeschwindigkeit.

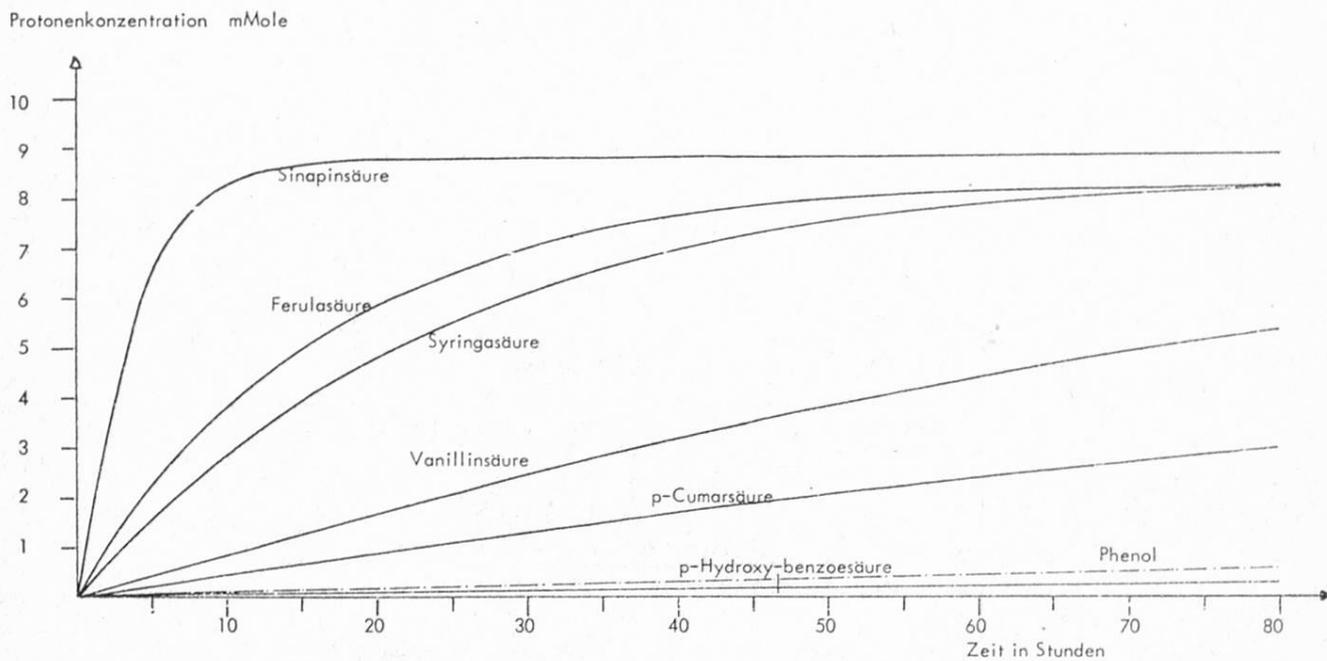
Auf den kinetischen Zusammenhang zwischen der Abnahme der Konzentrationen des Oxydationsmittels, des Phenols und der Zunahme der Protonenkonzentration kann aus Zeitmangel nicht eingetreten werden (3). Der komplexen Kinetik liegt ein radikalischer Kettenreaktionsmechanismus zu Grunde. Das Persulfation zerfällt in zwei Sulfatradikale, welche ihrerseits das Phenol dehydrieren.

Als Modellsubstanzen für die Oxydation wurden Hydroxy-zimtsäure- und Hydroxy-benzoessäurederivate gewählt, weil diese Phenolcarbonsäuren neben den Flavonoiden fast in jeder höheren Pflanze aufgefunden werden.

Figur 1 zeigt die zeitliche Zunahme der Protonenkonzentration der Reaktion von 5 mMolen Natriumpersulfat mit je 10 mMolen p-Hydroxy-benzoessäure, p-Cumarsäure, Vanillinsäure, Ferulasäure, Syringasäure und Sinapinsäure bei pH

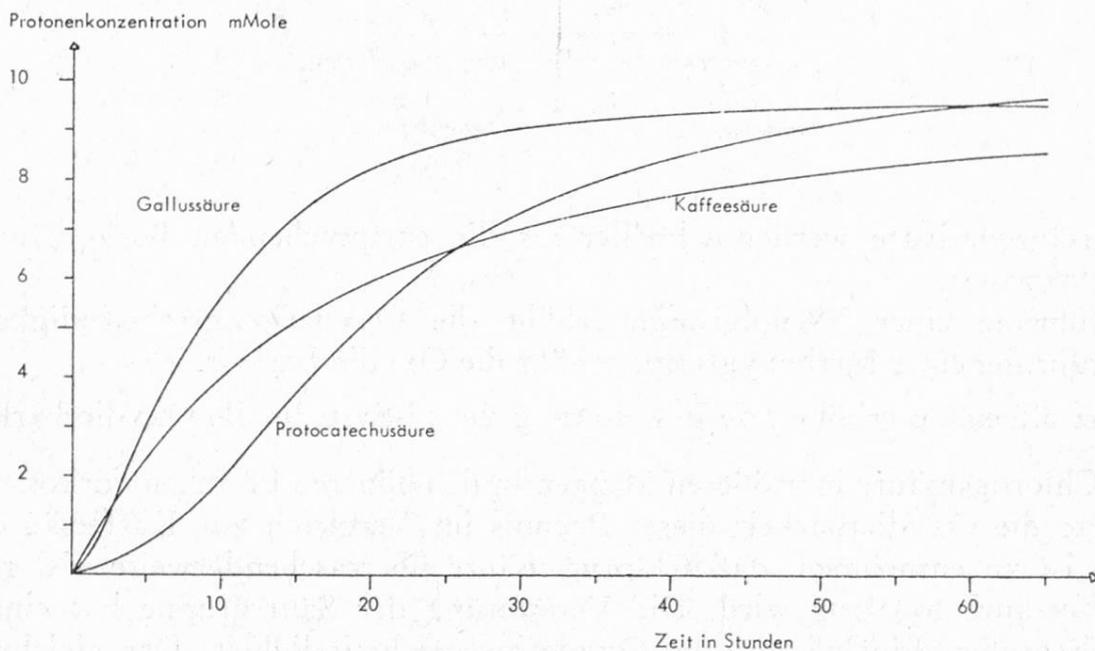
7,00. Das Reaktionsvolumen betrug 500 ml. p-Hydroxy-benzoessäure wird am langsamsten, Sinapinsäure am schnellsten oxydiert (Figur 1).

Figur 1



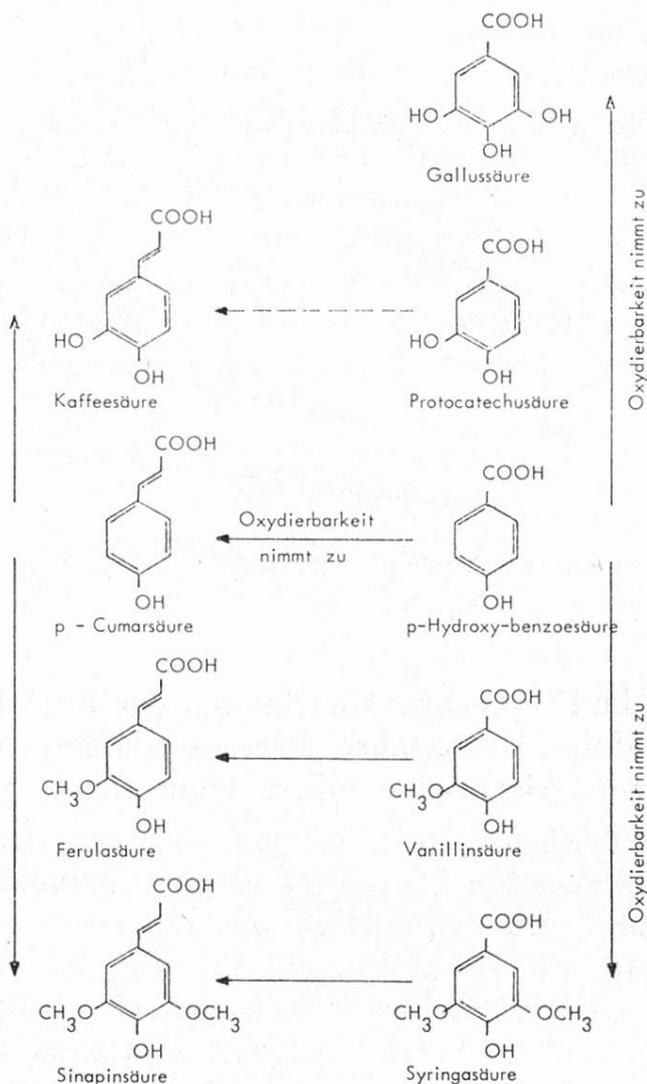
Aus Figur 2 sind die Protonenzunahmekurven der Reaktionen von 5mMolen Persulfat mit je 5 mMolen Kaffeesäure, Protocatechusäure und Gallussäure ersichtlich. Gallussäure wird sehr rasch oxydiert (Figur 2).

Figur 2



Die untersuchten Phenolcarbonsäuren unterscheiden sich durch die Anzahl der Phenol- und Methoxygruppen. Die Resultate der Oxydationsversuche sind in Figur 3 zusammengefaßt.

Figur 3



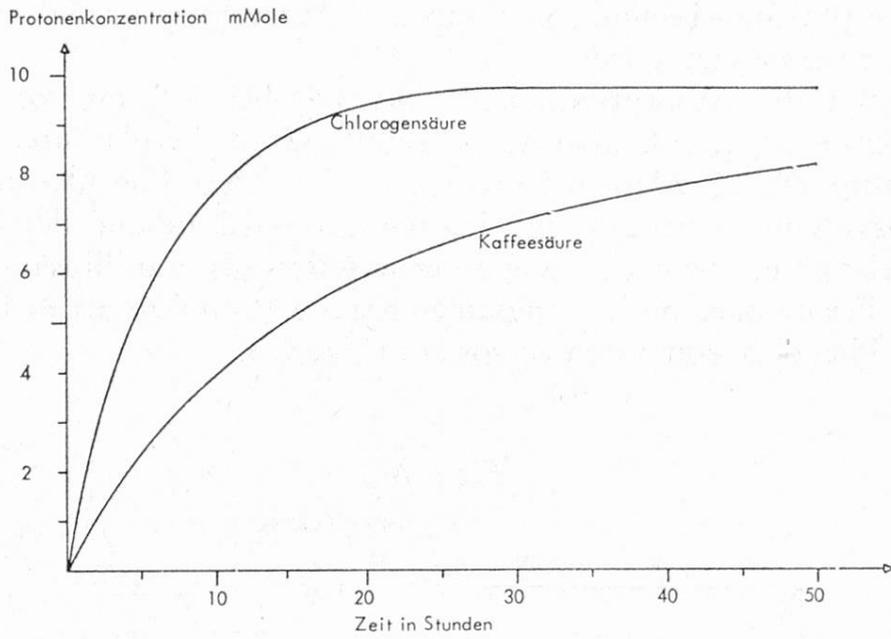
1. Zimtsäurederivate werden schneller als die entsprechenden Benzoessäurederivate oxydiert.
2. Einführung einer Phenolgruppe erhöht die Oxydationsgeschwindigkeit.
3. Einführung einer Methoxygruppe erhöht die Oxydierbarkeit.

Ganz allgemein erhöht eine Erweiterung des pi-Systems die Oxydierbarkeit.

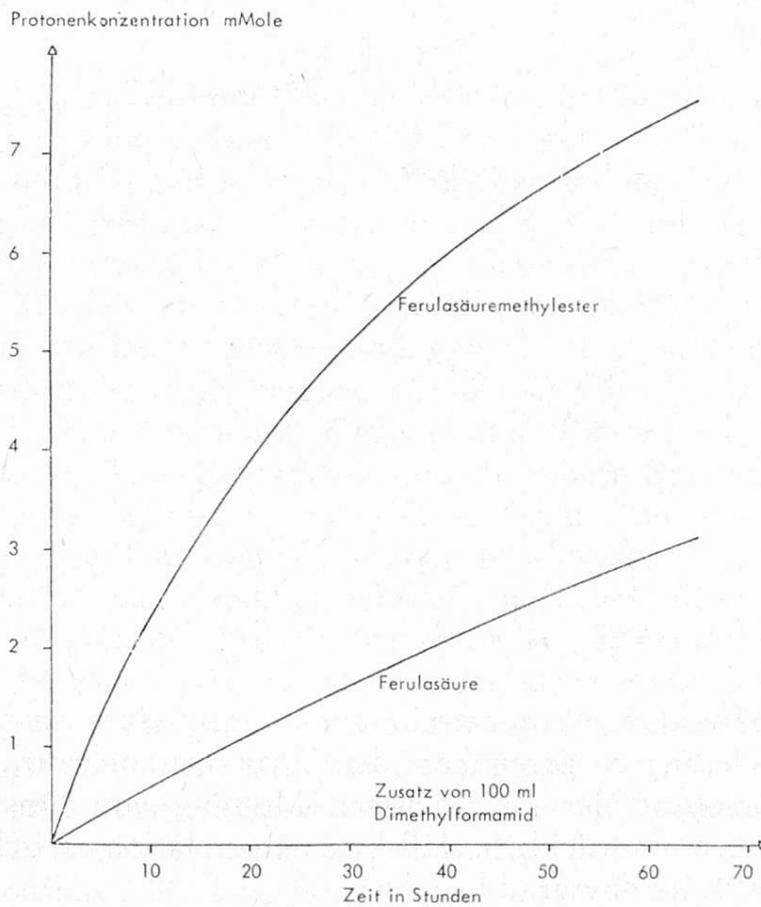
Da Chlorogensäure in größeren Mengen in den höheren Pflanzen vorkommt, interessiert die Oxydierbarkeit dieses Phenols im Vergleich zur Kaffeesäure. Der Figur 4 ist zu entnehmen, daß Chlorogensäure überraschenderweise viel rascher als Kaffeesäure oxydiert wird. Die Veresterung der Säuregruppe hat einen erstaunlich großen Einfluß auf die Oxydationsgeschwindigkeit. Das gleiche Ver-

halten konnte bei der Ferulasäure und dem ebenfalls natürlich vorkommenden Ferulasäuremethylester beobachtet werden. Der Ester wird ebenfalls viel rascher oxydiert als die Säuren (Figuren 4 und 5).

Figur 4

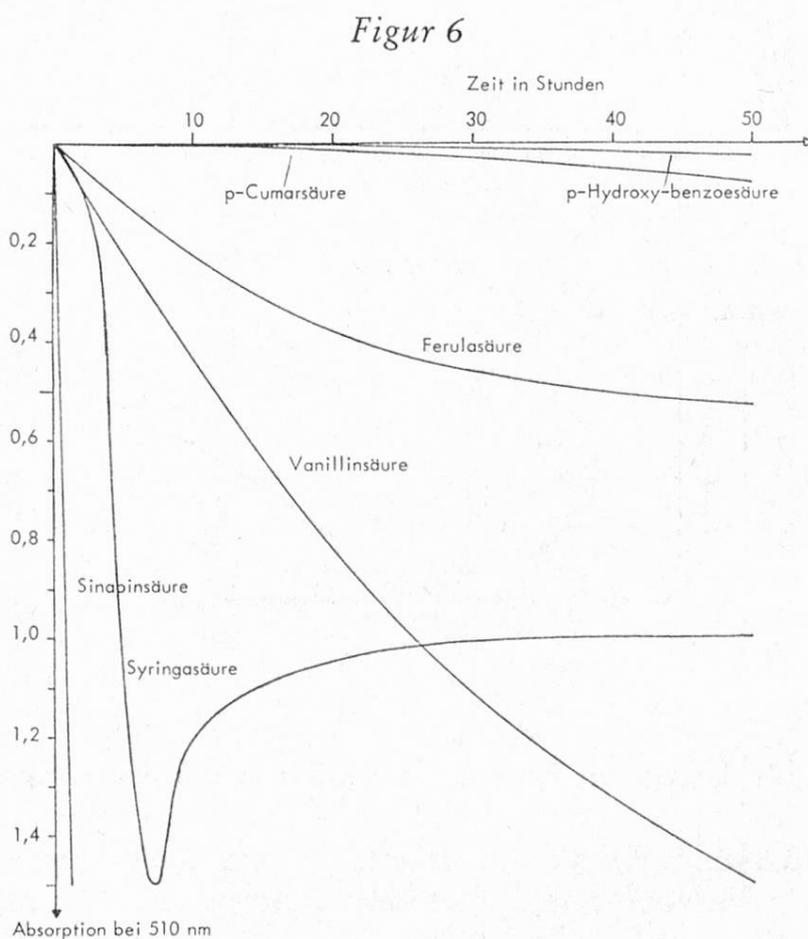


Figur 5



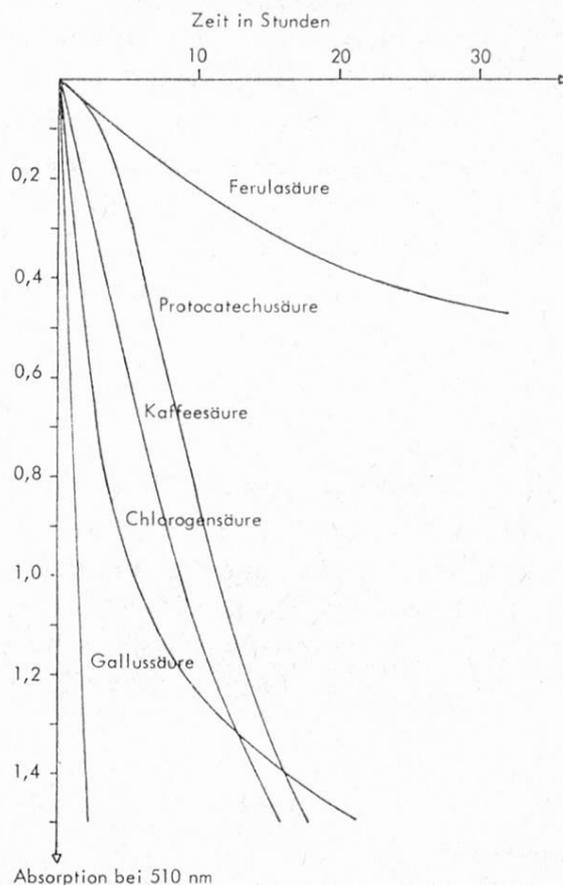
Für die visuelle Beurteilung der Qualität eines Lebensmittels ist der Oxydationsgrad weniger wichtig, als die spektralen Eigenschaften der entstandenen Produkte. Der Bräunungsgrad der Phenole wurde als die zeitliche Zunahme der Absorption bei 510 nm mittels eines Spektrometers gemessen. Die Konzentrationsverhältnisse waren genau dieselben wie bei der Messung des Oxydationsgrades mit der pH-Stat-Technik, nur daß zur Aufrechterhaltung des pH-Wertes Phosphatpuffer verwendet wurde.

Figur 6 zeigt die Absorptionzunahmekurven bei 510 nm von je 1 mMol p-Hydroxy-benzoesäure, p-Cumarsäure, Vanillinsäure, Ferulasäure, Syringasäure und Sinapinsäure mit 0,5 mMolen Natriumsulfat in 0,5 m Phosphatpuffer pH 7,0. Das Reaktionsvolumen betrug 50 ml. Ferulasäure wird anhand der Zunahme der Absorption bei 510 nm beurteilt langsamer oxydiert als Vanillinsäure und Syringasäure, d. h. Ferulasäure bildet langsamer braune Produkte als es ihrer Stellung innerhalb der Phenolcarbonsäuren entspricht (Figur 6).



Auch bei Kaffeesäure, Protocatechusäure, Gallussäure und Chlorogensäure treten Sequenzänderungen gegenüber den Protonenkonzentrationskurven auf (Figur 7). Die Resultate der gleichzeitigen Messung von Oxydationsgrad und Bräunungsgrad zeigen eindrücklich, daß keine Korrelation zwischen dem Oxydationsgrad und dem Bräunungsgrad besteht.

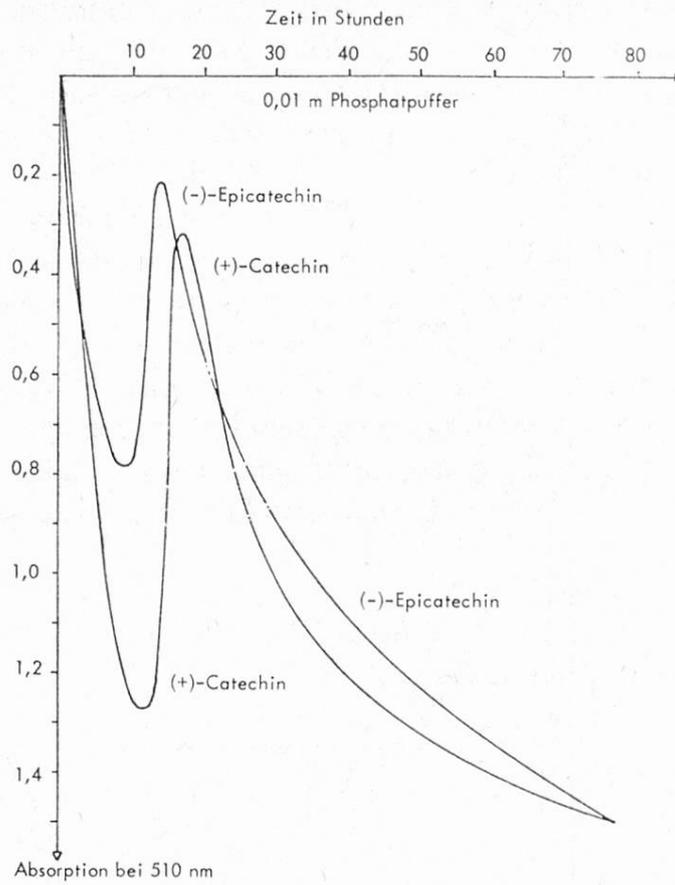
Figur 7



Das mehrmalige Ueberschneiden der Absorptionskurven, sowie die Zu- und Abnahme der Absorption während der Reaktion von (+)-Catechin und (—)-Epicatechin mit Persulfat (Figur 8) zeigt, daß die Beurteilung von Phenoloxydationen mittels Messung der Absorption im sichtbaren Bereich problematisch ist.

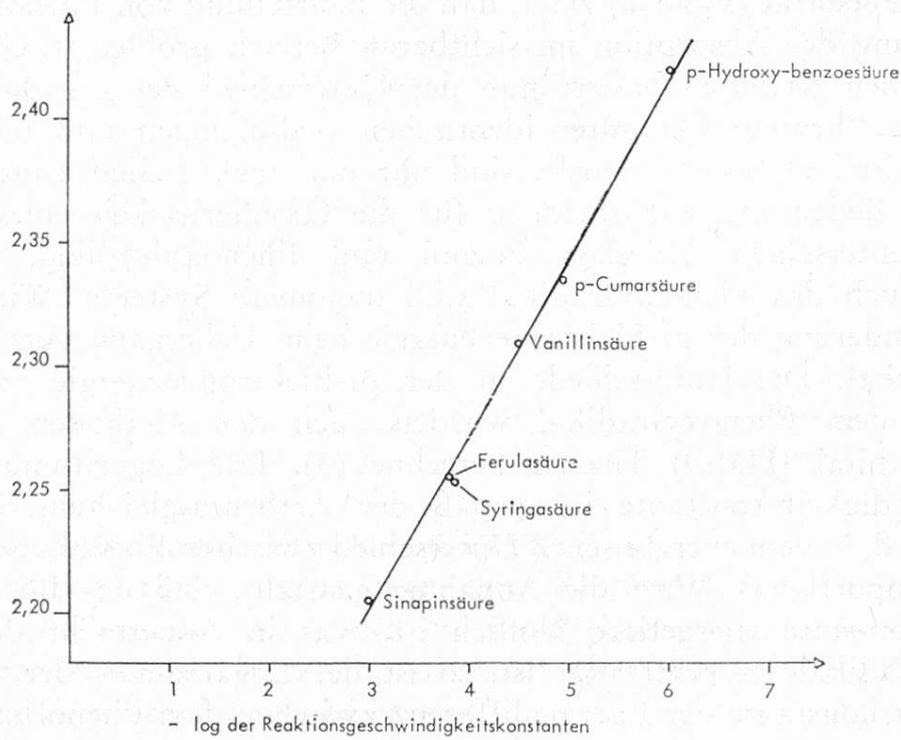
Auf welchen Kriterien basiert nun der Unterschied der Oxydierbarkeit der verschiedenen Phenole? Da unter identischen Bedingungen und mit demselben Oxydationsmittel gearbeitet wurde, sind nur die strukturellen Unterschiede der Phenole von Bedeutung. Entscheidend für die Oxydierbarkeit eines Phenols ist der Energieunterschied zwischen Phenol und Phenoxyradikal. Sowohl das Phenol als auch das Phenoxyradikal sind mesomere Systeme. Wichtig ist vor allem die Änderung der pi-Elektronenenergie beim Uebergang vom Phenol zum Phenoxyradikal. Die Unterschiede in der pi-Elektronenenergie zwischen dem Phenol und dem Phenoxyradikal wurden nach den Methoden der Hückel-Molekular-Orbital (HMO) Theorie berechnet (3). Der Logarithmus der Reaktionsgeschwindigkeitskonstante ist gemäß der Arrheniusgleichung der Aktivierungsenergie, d. h. dem energetischen Unterschied zwischen Phenol und dem transition-state proportional. Wird die Annahme gemacht, daß das Phenoxyradikal dem transition-state energetisch ähnlich ist, was in Anbetracht der instabilen Natur des Radikals gerechtfertigt ist, so ist der Logarithmus der Reaktionsgeschwindigkeitskonstante der Energiedifferenz zwischen dem Phenol und dem Phe-

Figur 8



Figur 9

HMO-Energiedifferenzen in β -Einheiten



noxyradikal proportional. Wie aus Figur 9 ersichtlich ist, ergibt der Logarithmus der experimentell bestimmten Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten gegen die berechneten HMO-Energiedifferenzen aufgetragen eine Gerade (Figur 9).

Diese Verbindung der experimentellen Resultate mit der Theorie sichert die Feststellung, daß die pi-Elektronenenergiedifferenz zwischen Phenol und Phenoxyradikal für die Oxydierbarkeit verantwortlich ist. Vereinfacht ausgedrückt, wird ein Phenol umso schneller oxydiert, je mehr das Phenoxyradikal durch Mesomerie stabilisiert ist, d. h. je mehr elektromere Substituenten das Phenol trägt, auf welche das radikalische Elektron delokalisiert werden kann.

Zusammenfassung

Die Oxydierbarkeit verschiedener pflanzlicher Phenole wurde durch Messung der Protonenzunahme (pH-Stat) während der Oxydation mit Persulfat bestimmt. Die Oxydierbarkeit ist stark von der Struktur abhängig. Ein Phenol wird um so schneller oxydiert je mehr das Phenoxyradikal durch Mesomerie stabilisiert ist. Die gleichzeitige Messung der spektralen Eigenschaften der Oxydationsprodukte zeigte keinen Zusammenhang zwischen Bräunungsintensität und Oxydationsgrad.

Summary

The rate of oxidation of a number of plant phenols has been determined by measuring the increase in proton concentration upon oxidation by persulfate. The rate of oxidation is strongly dependant upon the structure of the phenol. The more the phenoxy radical is stabilized by resonance the faster ist the oxidation of the phenol. The concurrent measurement of the spectral properties of the oxidation products has shown that there is no relationship between intensity of browning and degree of oxidation.

Literatur

1. Mathew A. G. und Parpia H. A. B.: Adv. Fd. Res. **19**, 75 (1971).
2. Fieser L. F.: J. Am. Chem. Soc. **52**, 5204 (1930).
3. Vgl. Dissertation J. Baumgartner, ETH-Z.

Ueber die Bildung von «off flavour» bei der Lagerung walzengetrockneter Weizenmehle

Einführung

Walzengetrocknetes Weizenmehl findet in steigendem Ausmaß Verwendung in der Produktion von «Instant Foods». Solches Mehl unterscheidet sich aber von gewöhnlichem Mehl; es ist flockig und oxydationsempfindlich, d. h. bei seiner Lagerung wird häufig die Bildung von «off flavours» beobachtet, die auf autoxidative Veränderungen der Mehllipide zurückgeführt werden kann. Das Hauptprodukt in diesen «off flavours» ist Hexanal, das gewöhnlich in autoxydierten Fetten und Oelen angetroffen und vielfach als Indikator für das Ranzigwerden betrachtet wird. Neben Hexanal findet man unter der Vielzahl anderer Abbauprodukte Heptanal und Decanal in größeren Mengen, weshalb diese beiden Verbindungen ebenfalls als Indikatoren der Fettautoxidation vorgeschlagen worden sind.

Unsere Arbeiten hatten zum Ziel, die Faktoren, die das Ranzigwerden walzengetrockneter Mehle beeinflussen, zu ermitteln, um wenn möglich Mittel zur Verhinderung dieser unerwünschten Erscheinung zu finden. Zu diesem Zweck bedienten wir uns der Methoden der Dünnschicht- und der Gaschromatographie.

Experimentelles

Materialien

Die zur Untersuchung gelangten Hartweizenproben wurden von der Firma Gebr. Bühler AG, Uzwil zur Verfügung gestellt. Nach den Angaben dieser Firma handelte es sich um zwei als Dunst 2 und Nachmehl 2 bezeichnete Produkte, deren Analyse folgendes Ergebnis zeitigte.

Tabelle 1. Zusammensetzung einiger Mehlkomponenten

Produkt	Petroläther-lösliche Lipide %	Butanol-lösliche Lipide %	Protein-Gehalt %	Asche %
Dunst 2	1,25	2,54	13,7	0,8
Nachmehl 2	2,30	3,91	15,2	1,2

Für das Walzentrocknen wurden die Mehle entweder direkt in Wasser aufgeschlämmt oder zuerst zu einem Teig verarbeitet. Nach zweistündigem Ruhenlassen

und nachfolgendem Aufschlänmen wurden die Mehl-Wasser-Suspensionen auf einem Zwei-Walzen-Trockner getrocknet.

Von den getrockneten Proben wurde je 50 g in 250 ml Serumflaschen eingewogen. Die Flaschen wurden mit den dafür üblichen Schraubverschlüssen verschlossen, wobei eine zusätzlich eingelegte Teflonfolie den Kontakt zwischen den flüchtigen Geruchsstoffen und dem Gummi verhinderte. Die Proben wurden dann bei Raumtemperatur gelagert und periodisch analysiert.

Methoden

1. Gaschromatographie des «off flavours»

Zur Untersuchung des «off flavours» bedienten wir uns zweier Verfahren: der direkten Head-Space-Technik und der Analyse eines Head-Space-Konzentrates. Beide Verfahren sind für Forschungszwecke geeignet; aus Gründen des Zeitbedarfs ist aber für routinemäßige Kontrollen das erste vorzuziehen.

Bei der direkten Head-Space-Technik wurde die Mehlprobe vor der Analyse bis zum Erreichen des Gleichgewichts auf 50 ° C gehalten. Dann wurden dem Dampfraum mit einer auf 50 ° C vorgewärmten Spritze 2,5 ml Gas entnommen und zur Analyse gebracht.

Die Chromatogramme wurden mit einem Perkin-Elmer Gerät F 7 aufgenommen. Als stationäre Phase wurde 15 % Ucon LB-550X auf Kieselgur 60/100 verwendet. Bei einer Arbeitstemperatur von 90 ° C ließ sich das Hexanal, das als Indikator für den «off flavour» gewählt wurde, mit guter Auflösung bestimmen. Zum Vergleich der Proben wurde die Peakhöhe gemessen und graphisch gegen die Lagerungszeit aufgetragen.

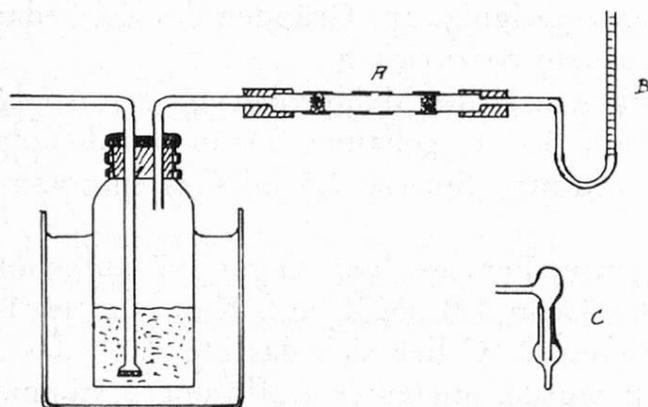
Trotzdem die direkte Head-Space-Analyse von verblüffender Einfachheit ist, bietet sie einige wesentliche Nachteile. Sie erlaubt nur das Erfassen von Geruchsstoffen großer Flüchtigkeit, die zudem noch in größerer Konzentration vorhanden sein müssen. Es kommen aber im Head-Space Aromabestandteile vor, die äußerst verdünnt oder zu schwerflüchtig sind, als daß sie durch direktes Einspritzen von Head-Space-Gasen nachgewiesen oder sogar quantitativ bestimmt werden könnten.

Aus diesem Grunde sind in den letzten Jahren Methoden entwickelt worden, die man als Head-Space-Anreicherung oder -Konzentrierung bezeichnen kann. Ohne Anspruch auf Vollständigkeit erheben zu wollen, soll auf die Arbeiten von *Jennings* (1), *Dravnieks* (2), *Weurman* (3) und deren Mitarbeiter verwiesen werden, die die Grundlagen zu dieser Methode geschaffen haben. Für die vorliegende Arbeit wurde die von *Grob* (4) ausgearbeitete Anreicherungsmethode verwendet.

Die bereits erwähnten, die Mehlproben enthaltenden Serumflaschen wurden an die in Figur 1 schematisch dargestellte Apparatur angeschlossen. Bei einer Strömungsgeschwindigkeit von 16—17 ml/Min. wurde während zwei Stunden nachgereinigter Stickstoff durch die auf 50 ° C gehaltene Probe geleitet und die flüchtigen Stoffe an zwei hintereinander geschalteten Aktivkohlefiltern adsorbiert. Zur

Desorption wurden die Filter in einem Mikroextraktor während je 30 Minuten mit je 250 μl gereinigtem Schwefelkohlenstoff extrahiert. Von den vereinigten Extrakten wurden 2 μl nach der Vorschrift von *Grob* (5) an einer 112 m langen, mit Ucon HB 5100 belegten Glas-Kapillarsäule* in einem Carlo Erba Gaschromatographen, Modell G1 450 aufgetrennt. Eine andere 2 μl Probe wurde auf einer gepackten Säule, die 5 % Ucon LB-550X auf Chromosorb G, AW-DMCS enthielt, zerlegt. Dazu wurde ein PYE 104 Gerät benützt.

Da es möglich ist, daß empfindliche Aromabestandteile an Aktivkohle Veränderungen erleiden und dadurch Artefakte entstehen können, wurde in einigen Versuchen das Head-Space-Gas in der ebenfalls in Figur 1 dargestellten Falle, die gekühlten Schwefelkohlenstoff (Kohlensäure-Isopropylalkohol Bad) enthielt, aufgefangen. Es zeigte sich aber, daß die mit dieser Methode erhaltenen Gaschromatogramme ausnahmslos die gleichen Peaks enthielten, wenn auch kleinere Verschiebungen in den Peakhöhen festgestellt werden konnten.



Figur 1. Apparat zur Anreicherung organischer Verbindungen aus dem Headspace.

- A = Aktivkohlefilter
- B = Manometer
- C = Auffangkölbchen

2. Dünnschichtchromatographie der Mehllipide

Um die gaschromatographischen Untersuchungen, die es nicht erlauben, das Anfangsstadium der Autoxidation, d. h. die Bildung von Primärprodukten, der Mehllipide zu erkennen, zu ergänzen, wurde begonnen nach solchen Substanzen mit dünn-schicht-chromatographischen Methoden zu suchen. Nach einem von *Graveland* (6) ausgearbeiteten Mikroverfahren wurden 10 mg Mehl-Proben mit 0,5 ml eines Aethanol-Benzol-Wasser-Gemisches (10:10:1) extrahiert. Der gewonnene Extrakt wurde direkt auf eine Dünnschichtplatte (Kieselgel F₂₅₄) aufgetragen und nach dem Trocknen entwickelt.

Zur Trennung der nichtpolaren von den polaren Lipiden wurden die Platten zuerst mit Laufmittel I: Diäthyläther-Benzol-Aethanol-Essigsäure (40:50:2:0,2) entwickelt. Nachdem die Laufmittelfront 9 cm erreicht hatte, wurde die Platte 10 Minuten getrocknet und dann in der gleichen Richtung mit Laufmittel II: Diäthyläther-Hexan (6:94) chromatographiert bis die Front eine Strecke von

* Diese Säule wurde uns in verdankenswerter Weise von Herrn Prof Dr. *K. Grob* (Universität Zürich) zur Verfügung gestellt.

15 cm vom Startpunkt gelaufen war. Die Gesamtentwicklungszeit betrug 50 Minuten. Durch Anwendung dieses Prozesses blieben die polaren Lipide am Ausgangspunkt zurück.

Die polaren Lipide wurden anfänglich auch aufgetrennt. Es zeigte sich jedoch, daß diese Lipide von der Autoxidation nicht sichtbar beeinflusst werden und für die Bildung des «off flavour» kaum in Frage kommen.

Zur Sichtbarmachung der Flecken wurden die getrockneten Platten gleichmäßig mit 50 % Schwefelsäure besprüht und anschließend 15 Minuten bei 170 ° C erhitzt. Gegenwärtig sind Versuche im Gange, die geschwärzten Banden mit einem Densitometer (Vitatron TLD 100) zu messen, um Veränderungen in der Zusammensetzung der nichtpolaren Lipide feststellen zu können. Gleichzeitig wird die Möglichkeit untersucht, die unvollständige Extraktion der Lipide aus walzengetrockneten Mehlen zu verbessern. Dies scheint möglich zu sein durch Anwendung der von *Becker* und *Acker* (7) zur Bestimmung der Lipide in Weizenstärke entwickelten Methode.

Resultate und Diskussion

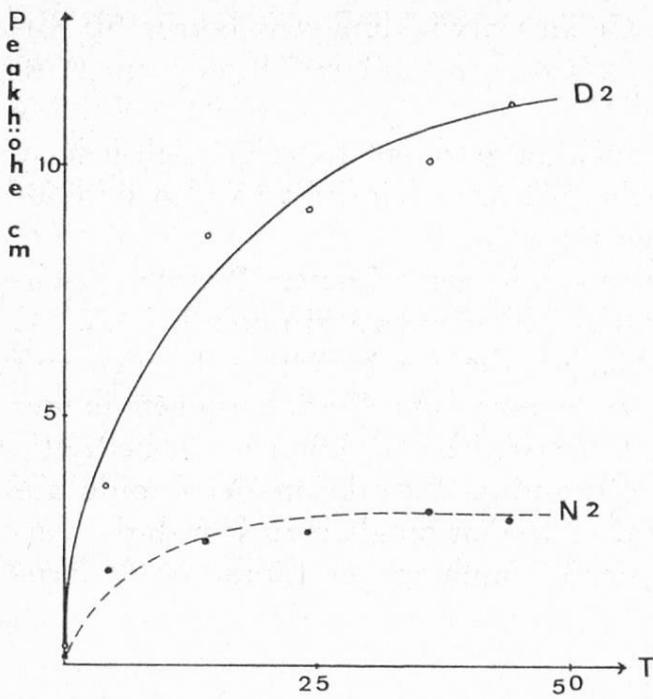
1. Direkte Head-Space-Analyse walzengetrockneter Mehle

Die Ergebnisse der Lagerversuche von walzengetrockneten Mehlen, die sich gewöhnlich über eine Zeitdauer von 2—3 Monaten, in einzelnen Fällen bis 6 Monaten erstreckten, sind aus den folgenden Figuren ersichtlich.

Figur 2 zeigt den Einfluß der Mehlqualität auf die Hexanalbildung. Beim Vergleich der Kurven zeigen sich beträchtliche Unterschiede in der Menge produzierten Hexanals. Es ist interessant, daß Dunst 2, obwohl er nur die Hälfte des Lipidgehaltes aufwies, bedeutend stärker ranzig wurde als das lipidreichere Nachmehl 2. Daraus kann geschlossen werden, daß der Fettgehalt eines Mehls offenbar kein Kriterium für das Ausmaß der «off flavour» Bildung ist. Es ist anzunehmen, daß antioxidativ wirksame Substanzen (Tocopherole?), an denen das Nachmehl reicher ist als der Dunst, dem Ranzigwerden entgegenwirken.

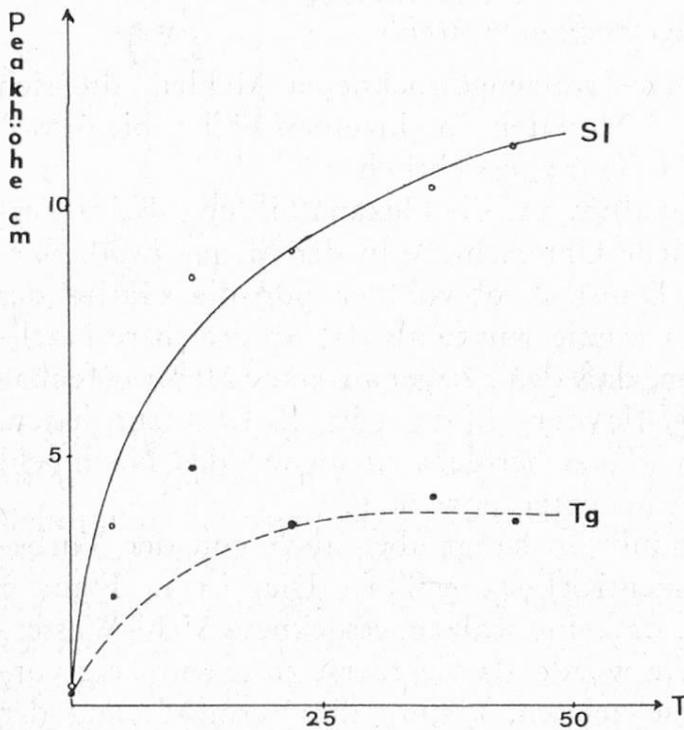
Das Ausmaß der «off flavour» Produktion hängt aber auch von der Vorbehandlung ab, die dieses vor dem Walzentrocknen erfährt. Dies ist in Figur 3 demonstriert, aus welcher ersichtlich ist, daß eine walzengetrocknete Mehl-Wasser-Aufschlammung bedeutend stärker ranzig wurde als die zuerst zu einem Teig vorbearbeitete Probe. Wie spätere Versuche zeigten, könnte die Verminderung der Geruchsbildung darauf zurückzuführen sein, daß ein großer Teil der freien Lipide des Mehls, die ja hauptsächlich nichtpolar sind, beim Anteigen an die Proteine gebunden werden (8) und deshalb in einem viel geringeren Ausmaß der Autoxidation ausgesetzt sind.

Der Einfluß des Wassergehaltes der walzengetrockneten Mehlproben auf das Ranzigwerden ist in Figur 4 dargestellt. Eine Betrachtung der Kurven zeigt eindeutig, daß höhere Wassergehalte die «off flavour» Bildung in vorteilhafter Weise vermindern. Ein Grund für dieses Verhalten höher wasserhaltiger Proben kann der sein, daß in diesen die Retrogradation der Stärke schneller vor sich geht und



Figur 2. Einfluß der Mehlqualität auf die Hexanbildung in Mehlflocken

D2 = Dunst 2
N2 = Nachmehl 2

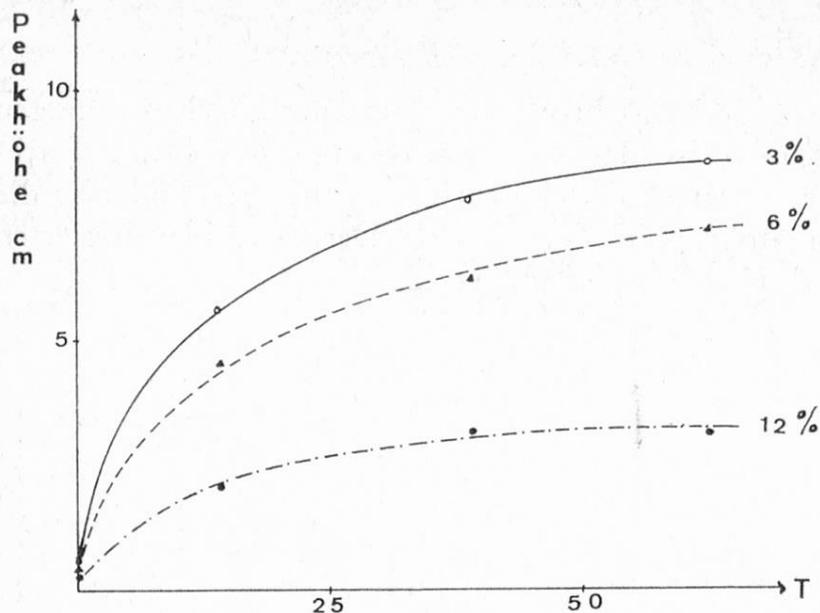


Figur 3. Einfluß des Anteigens auf die Hexanbildung in Mehlflocken

S1 = Slurry
Tg = Teig

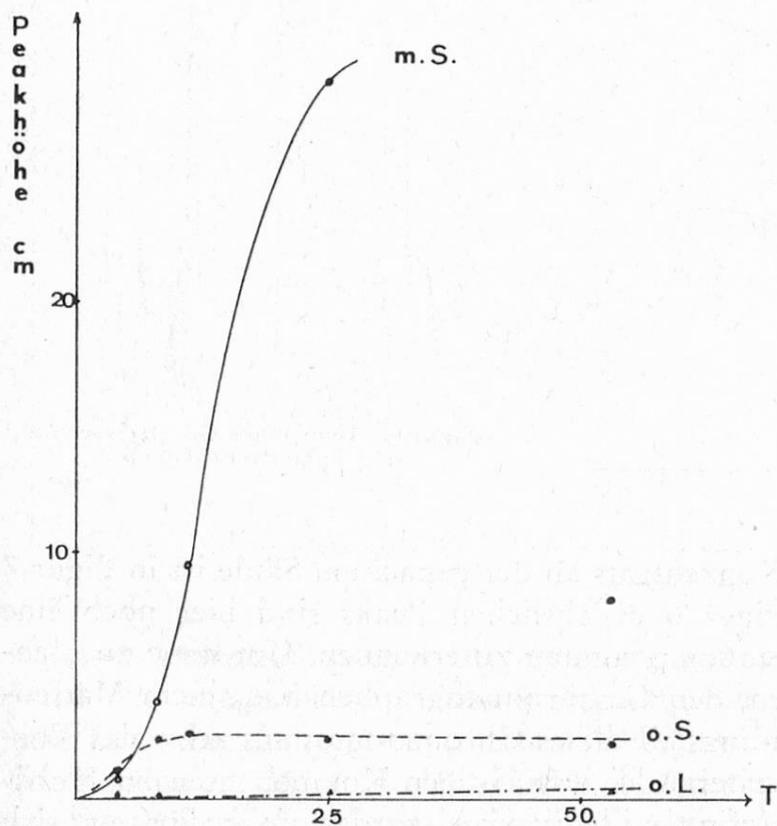
daß durch Bildung von Einschlußverbindungen zwischen der Stärke und den Primärprodukten der Fettautoxidation diese dem Angriff des Luftsauerstoffs entzogen werden. Leider ist aber zu erwähnen, daß Proben, die mehr als 10 % Wasser enthalten, an der Luft sehr rasch schimmelig werden.

Als vierte Variable, die untersucht wurde, ist das pH der Mehlproben zu erwähnen. Zu diesem Zwecke wurden Mehl-Wasser-Aufschlammungen, die mit Citronensäure auf ein pH von 3,5 eingestellt worden waren, getrocknet. In Figur 5



Figur 4. Einfluß des Wassergehaltes auf die Hexanalbildung in Mehlflocken.

ist das Ergebnis dieser Untersuchung wiedergegeben. Wie aus dieser Figur ersichtlich ist, werden angesäuerte Mehlproben viel stärker ranzig als nicht angesäuerte. Das ist bekanntlich der säurekatalysierten Zersetzung der Hydroperoxyde zuzuschreiben, die zu den bevorzugten Möglichkeiten der Bildung von Fettaromen gehört. Daß es die freien Lipide sind, welche für die «off flavour» Bildung verantwortlich sind, ist aus der mit o. L. bezeichneten Kurve ersichtlich. Das dafür benützte Mehl wurde vor dem Walzentrocknen mit Petroläther erschöpfend extrahiert.

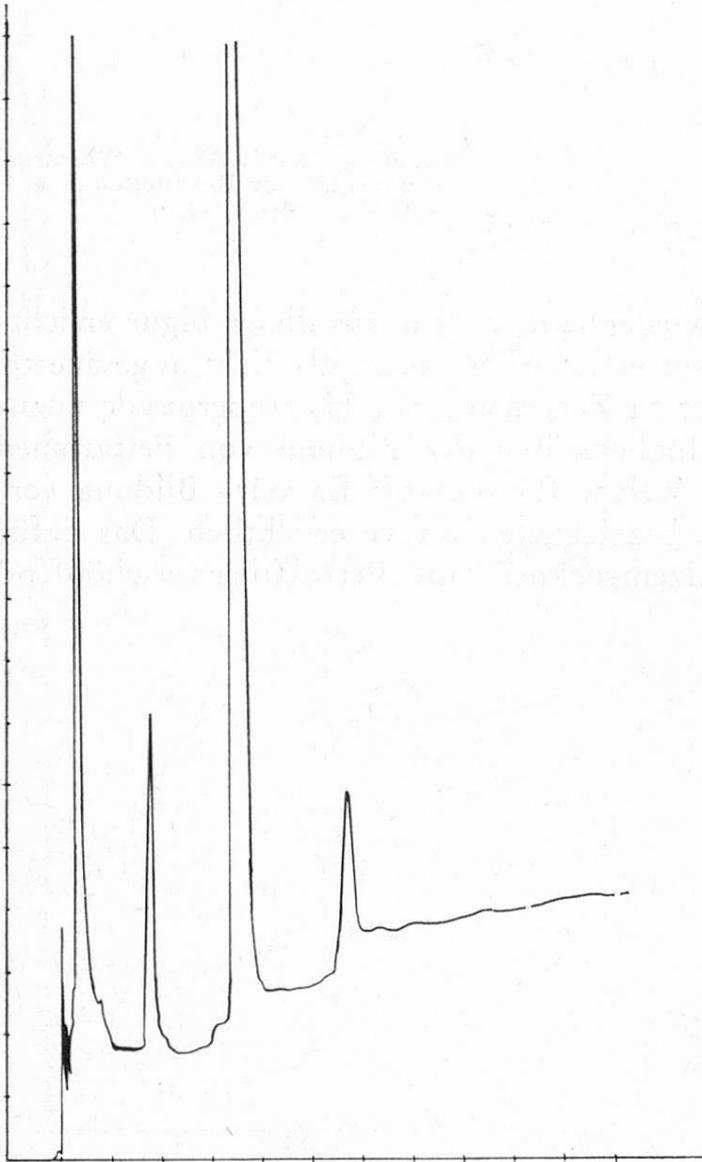


Figur 5 Einfluß des pH auf die Hexanalbildung in Mehlflocken.

mS = mit Säure
o.S = ohne Säure
o.L. = ohne freie Lipide

2. Gaschromatographische Analyse eines Head-Space-Konzentrats

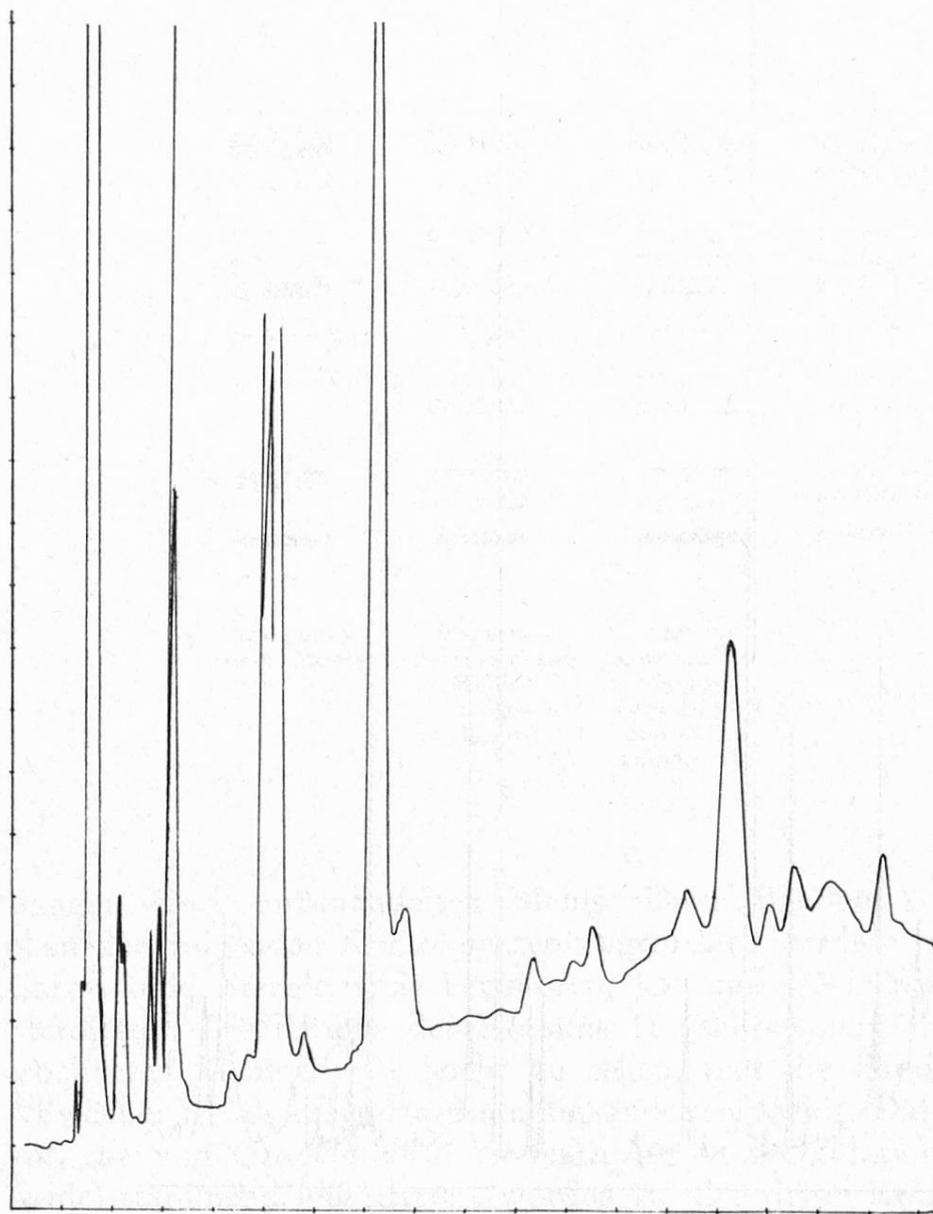
In den folgenden Figuren sind drei Gaschromatogramme der gleichen ranzigen Mehlprobe wiedergegeben. Figur 6 ist das Chromatogramm des Head-Space-Gases. Aus diesem lassen sich nur vier Peaks eindeutig erkennen; es sind dies die auch durch Dünnschichtchromatographie der DNPH-Derivate identifizierten Peaks von Acetaldehyd, Butanal, Hexanal und Heptanal.



Figur 6. Headspace-Gasanalyse von ranzigen Mehlflocken.

Die Analyse des Head-Space-Konzentrats an der gepackten Säule ist in Figur 7 dargestellt. Nebst den auch in Figur 6 ersichtlichen Peaks sind hier noch eine größere Zahl von Peaks der Spurenkomponenten zu erkennen. Um diese zu identifizieren, würde es sich empfehlen, den Gaschromatographen mit einem Massenspektrometer zu koppeln. Der Anfangsteil dieses Chromatogramms zeigt das Vorhandensein von wenigstens vier weiteren leichtflüchtigen Komponenten im Head-Space-Gas. Diese sind noch nicht definitiv identifiziert worden, doch dürfte es sich

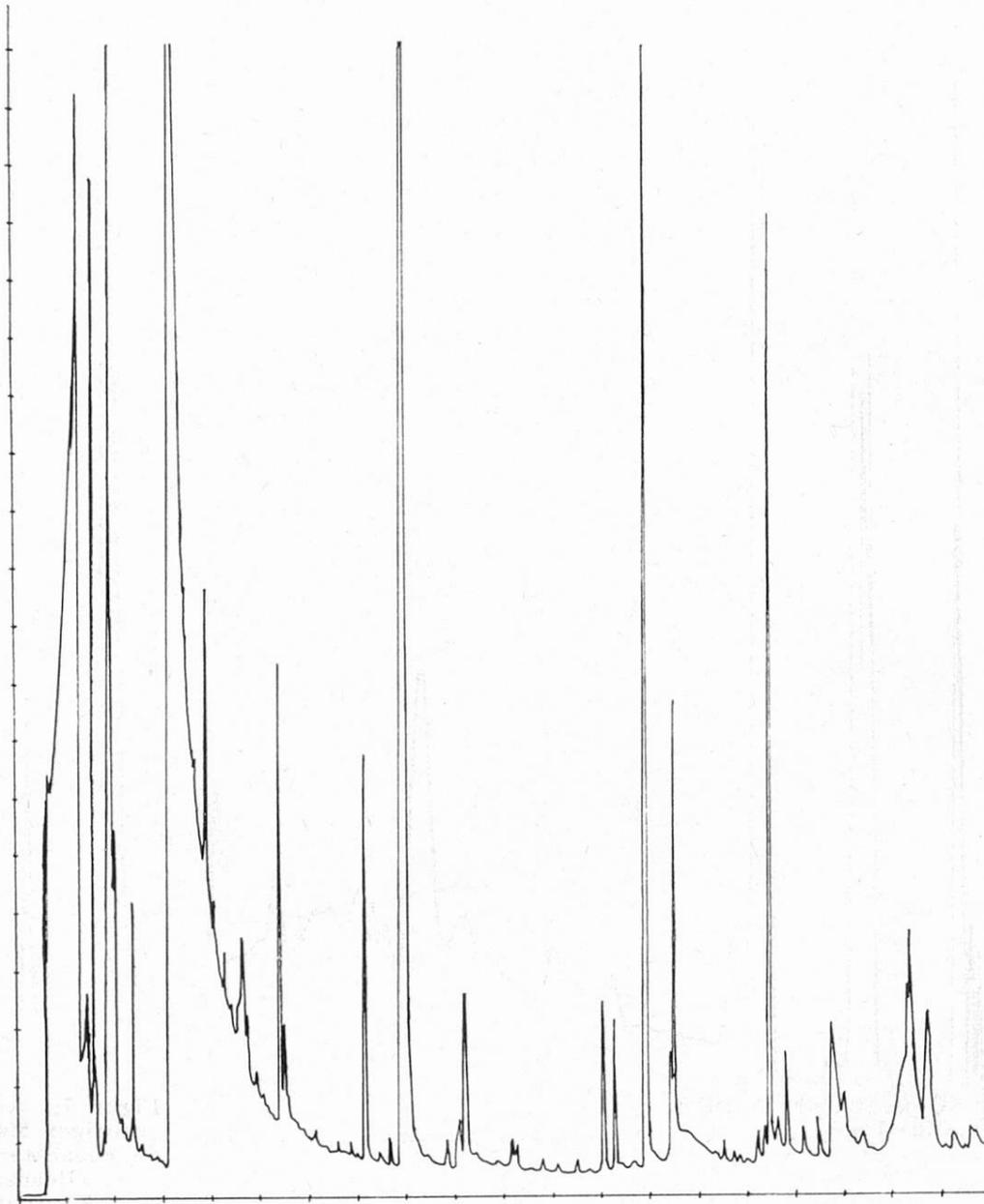
um Propanal, Isobutanal, Isopentanal und Pentanal handeln. Die nach dem Heptanal erscheinenden schwerer flüchtigen Anteile mußten bei höheren Temperaturen analysiert werden, was bei Verwendung eines Temperaturprogramms sehr gut gelang. Wie man sieht, sind im Head-Space-Konzentrat einige höher siedende Substanzen in relativ hoher Konzentration vorhanden, die im Chromatogramm des Head-Space-Gases nicht feststellbar waren. Daneben treten eine Reihe weiterer Peaks auf, die auf Spurenbestandteile schließen lassen.



Figur 7. Analyse von ranzigen Mehlflocken an gepackter Glassäule (Headspace-Konzentrat).

Eine wesentlich bessere Auftrennung wurde mit einer Glas-Kapillarsäule erzielt. Das entsprechende Chromatogramm der Probe ist in Figur 8 wiedergegeben. Die schmalen, gut separierten Peaks sind das Ergebnis der wesentlich höheren Bodenzahl dieser Säulen. Durch die scharfe Peakform werden die Nebenbestandteile des Konzentrats besser sichtbar als mit der gepackten Säule. Trotz ihrer

Komplexität lassen sich deshalb solche Chromatogramme zur Charakterisierung von Mehlproben gut verwenden. So zeigte ein Vergleich eines Chromatogramms einer walzengetrockneten Mehlprobe mit demjenigen des Ausgangsmehls, daß ein großer Teil der flüchtigen Spurenbestandteile bereits im letzteren vorhanden sind. Ob diese bereits im intakten Weizenkorn vorliegen, ist noch nicht definitiv erwiesen.



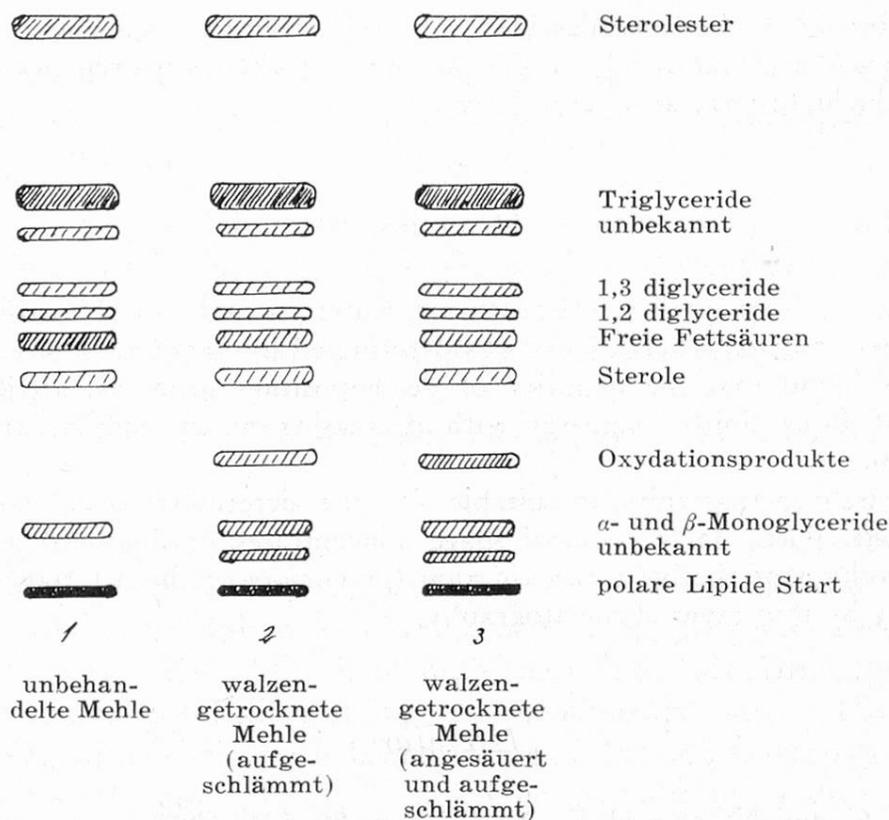
Figur 8. Analyse von ranzigen Mehlfloeken an Glas-Kapillarsäure (Headspace-Konzentrat).

3. *Dünnschichtchromatographie der Mehllipide*

Da, wie schon erwähnt, sowohl die direkte Head-Space-Analyse als auch die Analyse des Head-Space-Konzentrats nur die flüchtigen Sekundärprodukte der

Autoxidation der Mehllipide erfassen, wurden einige Mehlsproben vor und nach dem Walzentrocknen dünn-schichtchromatographisch auf Veränderungen in der Lipid-Zusammensetzung untersucht. Figur 9 zeigt die Trennung der nichtpolaren Lipide eines Mehls vor und nach dem Walzentrocknen. Kolonne I zeigt die

Figur 9. Dünnschicht-Chromatogramme der Lipide von Mehlsproben.



Banden eines unbehandelten Mehls. Diese Banden können von unten nach oben den folgenden Komponenten zugeordnet werden: α - und β -Monoglyceride, Carotinoide, Sterole, freie Fettsäuren, 1,2- und 1,3-Diglyceride, Triglyceride und Sterolester. Die Banden der Kolonne II gehören zum entsprechenden walzengetrockneten Mehl. Es ist leicht zu sehen, daß die Bande der freien Fettsäuren schwächer ist als diejenige des unbehandelten Mehls. Dafür tritt eine neue Bande auf, die von *Graveland* (6) eindeutig als von Oxidationsprodukten (Hydroperoxide) stammend identifiziert worden ist. Die dritte Kolonne enthält die Banden des walzengetrockneten, angesäuerten Mehls. Auch hier sind freie Fettsäuren und Oxidationsprodukte festzustellen, jedoch sind die Banden schwächer als die beim gewöhnlichen, walzengetrockneten Mehl. Ob die Abschwächung dieser Banden eine Folge der Weiteroxidation zu flüchtigen Sekundärprodukten ist, oder ob unvollständige Extraktion dafür verantwortlich gemacht werden muß, kann noch nicht entschieden werden. Dies muß durch weitere Arbeiten abgeklärt werden.

Zusammenfassung

Die Abhängigkeit der Bildung von «off flavours» in walzengetrockneten Weizenmehlen von der Mehlqualität, der Vorbehandlung, des Wassergehaltes und des pH wurde gas- und dünn-schichtchromatographisch untersucht. Es wurde gefunden, daß die der Fett-oxidation zuzuschreibenden flüchtigen Abbauprodukte umso rascher und stärker zunehmen als der Wassergehalt und das pH der walzengetrockneten Mehle abnehmen.

Während sich zum Erfassen der flüchtigen Abbauprodukte die Gaschromatographie, und bei dieser besonders diejenige des Head-Space-Konzentrats, am besten eignet, kommt für das Erkennen der Primärprodukte der Autoxidation (Prekursoren des «off flavour») nur die Dünnschichtchromatographie in Frage.

Summary

The influence of flour quality, pretreatment, water content and pH on the formation of off flavour in roller-dried wheat flours was determined by gas- and thin-layer-chromatography. It was found that the quantity of decomposition products, attributable to the autoxidation of flour lipids, increases with decreasing water content and pH of the roller-dried flour.

Although gaschromatography is suitable for the determination of volatile decomposition products, particularly in head space concentrates, it does not allow to detect the primary products of the lipid autoxidation (precursors of the off flavour). These can be detected only by thin-layer-chromatography.

Literatur

1. Jennings W. G. and Nursten H. E.: *Anal. Chem.* **39**, 521 (1967).
2. Dravnieks A. et al.: *Environmental Sc. & Techn.* **5**, 1220 (1971).
3. Weurman C.: *J. Sc. Food Chem.* **17**, 370 (1969).
4. Grob K. und Grob G.: *J. Chromatography* **62**, 1 (1971).
5. Grob K. und Grob G.: *Chromatographia* **5**, 3 (1972).
6. Graveland A.: *JAOCS* **45**, 834 (1968).
7. Becker G. und Acker L.: *Stärke* **23**, 339 (1971).
8. Großkreuz J. C.: *Cereal Chem.* **38**, 336 (1961).

Zur Analytik der Malto-Saccharide

Einführung

Unter Malto-Sacchariden verstehen wir die ursprünglich im Gerstenkorn als Reservestoffe eingelagerten stärkeartigen Kohlenhydrate, die sich aus etwa $\frac{3}{4}$ Amylopektin und $\frac{1}{4}$ Amylose zusammensetzen, sowie die daraus teils beim Mälzen, hauptsächlich aber während des Maischens gebildeten Abbauprodukte. Letztere kann man in drei Gruppen aufgliedern:

- durch Bierhefe vergärbare Zucker, wie Glucose, Maltose und Maltotriose, wozu auch die in jeder Pflanze vorkommende Fructose und Saccharose zu zählen sind;
- unvergärbare Oligo-Saccharide mit 4—20 Glucose-Einheiten, mit Jod nicht reagierend;
- Dextrine mit mehr als 20 Glucose-Einheiten, mit Jod reagierend.

In normaler Würze und im Bier kommen lediglich die in den beiden ersten Gruppen aufgeführten niederen Degradationsprodukte vor. Während die Menge an Würzezuckern über die Gärung einen großen Einfluß auf die Qualität eines Bieres ausübt, stellen die Oligo-Saccharide eine durch Bierhefe unvergärbare, geschmackfreie Fraktion dar. Allerdings mißt man ihnen als Ausgangsprodukte der Zucker, Bestandteile der Kälte trübung, als Aromaträger sowie Dispersionsmittel eine gewisse Bedeutung bei. Auch lassen sich aus Zusammensetzung und Konzentration dieser Stoffgruppe in der resultierenden Würze gewisse Rückschlüsse über den Verlauf der Amylyse während des Maischprozesses ziehen. Aus diesen Gründen ist die Untersuchung der Malto-Saccharide von großem Interesse.

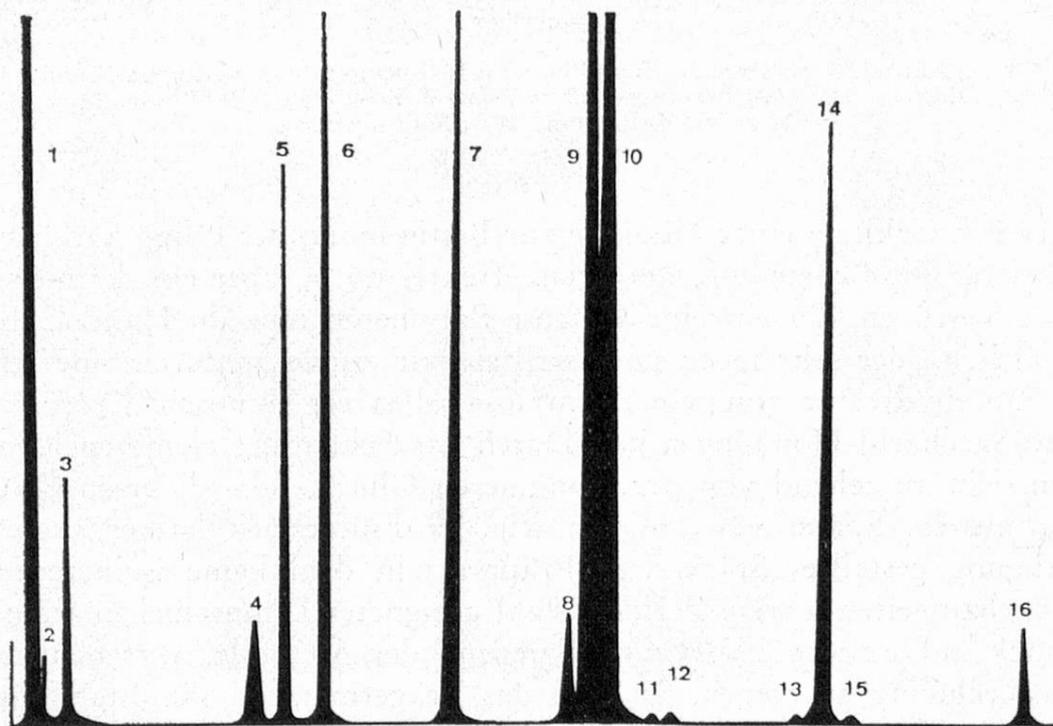
Analytik

Die heute dazu verfügbaren Analysenmethoden lassen sich ihrem Prinzip nach in mikrobiologische, biochemische und physikalisch-chemische Verfahren einteilen. In der Brauereipraxis am häufigsten wird die summarische Bestimmung der Zucker durch Vergärung mittels Bierhefe angewandt (1). Dadurch erhält man zwar innerhalb eines Betriebes wertvolle Informationen, doch kann man mit den Ergebnissen ihrer großen Vertrauensbereiche wegen keine absoluten zwischenbetrieblichen Vergleiche anstellen. Das gleiche gilt, abgesehen vom Zeitgewinn, ebenso für die manometrische Endvergärungsgradbestimmung im Warburgapparat (2). Durch den Einsatz verschiedenartiger Hefen, die eine divergierende, genetisch festgelegte Fähigkeit zur Vergärung bestimmter Zucker aufweisen, bietet sich ferner die Möglichkeit für eine entsprechende Differenzierung der Saccharide (3—8). Dieser sogenannte Mikrobialtest (8) ist jedoch vom analytischen Standpunkt aus

nicht ganz unproblematisch und zudem sehr zeitraubend. Mit dem Erscheinen hochreiner Enzympräparate im Handel fanden in neuerer Zeit auch biochemische Methoden in vielen Laboratorien Eingang (9—12). Diese enzymatischen Verfahren zeichnen sich zwar durch ihre große Spezifität aus, erfordern jedoch vor allem bei gleichzeitiger Bestimmung verschiedener Zucker einen ziemlich hohen Material- und Arbeitsaufwand. Zudem versagen sie beim Nachweis der Oligo-Saccharide. Für die Auftrennung von Kohlenhydratgemischen erlangten zweifellos die chemisch-physikalischen Methoden, wie die Papier- (13—20), Dünnschicht- (21 bis 31), Säulen- (14, 32—36) und Gas-Chromatographie (37—47), die größte Bedeutung. Die beste Fraktionierung, die sogar bei stereoisomeren Komponenten gelingt, läßt sich gaschromatographisch nach vorgängiger Umwandlung der Zucker in flüchtige Derivate erreichen. Allerdings liegt die Bestimmungsgrenze für Oligo-Saccharide bis jetzt bei der Malto-Pentaose. Auch die meisten der gebräuchlichen papier- und dünnschichtchromatographischen Verfahren eignen sich nur für die Trennung der niedermolekularen Kohlenhydrate und benötigen ziemlich viel Zeit. In den letzten Jahren trat ein automatisches verteilungschromatographisches Analysensystem in den Vordergrund, wozu eine mit warmem Wasser beheizte Polyacrylamid-Gel-Säule Verwendung findet (35). Dieses ermöglicht die Fraktionierung von Kohlenhydratgemischen nach Molekülgrößen bis zu Polymeren mit maximal 13 Glucose-Einheiten. Die Einführung dieser interessanten Methode ist allerdings relativ teuer und kann leicht an der Schwierigkeit beim Beschaffen eines brauchbaren Gels scheitern. Nach eingehender Prüfung der mit der Analytik der Malto-Saccharide zusammenhängenden Aspekte erachteten wir es als zweckmäßig, die Zucker gaschromatographisch zu erfassen, während zur Bestimmung der Oligo-Saccharide ein schnell durchführbares und für Routineuntersuchungen geeignetes dünnschichtchromatographisches Verfahren entwickelt werden sollte. Im weiteren war es notwendig, für die Vorbereitung der Malz-, Maische-, Würze- und Bierproben entsprechende Methoden auszuarbeiten.

Für die Ermittlung des Gehaltes an präexistierenden Zuckern im Malz erwies es sich als zweckmäßig, die fein vermahlene Probe mit Hilfe des Knösler-Böhm-Apparates unter Verwendung von 75%igem wäßrigem Methanol im Vakuum bei etwa 40 ° C zu extrahieren. Zum Auswaschen der Zucker hat sich dieses Gerät, welches auch bei der von uns für die Malzanalyse vorgeschlagenen Maischeextraktionsmethode (48) verwendet wird, gut bewährt. Das gewählte Extraktionsmittel verhindert die Tätigkeit der amylolytischen Enzyme und nimmt die zu bestimmenden Stoffe vollständig auf. Zudem läßt sich das Eluat bis zur weiteren Untersuchung gut aufbewahren und kann ohne zusätzliche Verarbeitung sowohl dünnschicht- als auch gaschromatographisch analysiert werden. Zum Inaktivieren der Enzyme, Ausfällen von störenden hochmolekularen Substanzen und Haltbarmachen der flüssigen Proben verdünnten und schüttelten wir diese mit dem 3fachen Volumen an Methanol. Dieses Vorgehen hat den zusätzlichen Vorteil, daß der Methanol mit dem Wasser der Proben ein azeotropes Gemisch bildet, das sich im Vakuumrotationsverdampfer bei relativ niedrigen Temperaturen entfernen läßt, wodurch die zur Silylierung und gaschromatographischen Ana-

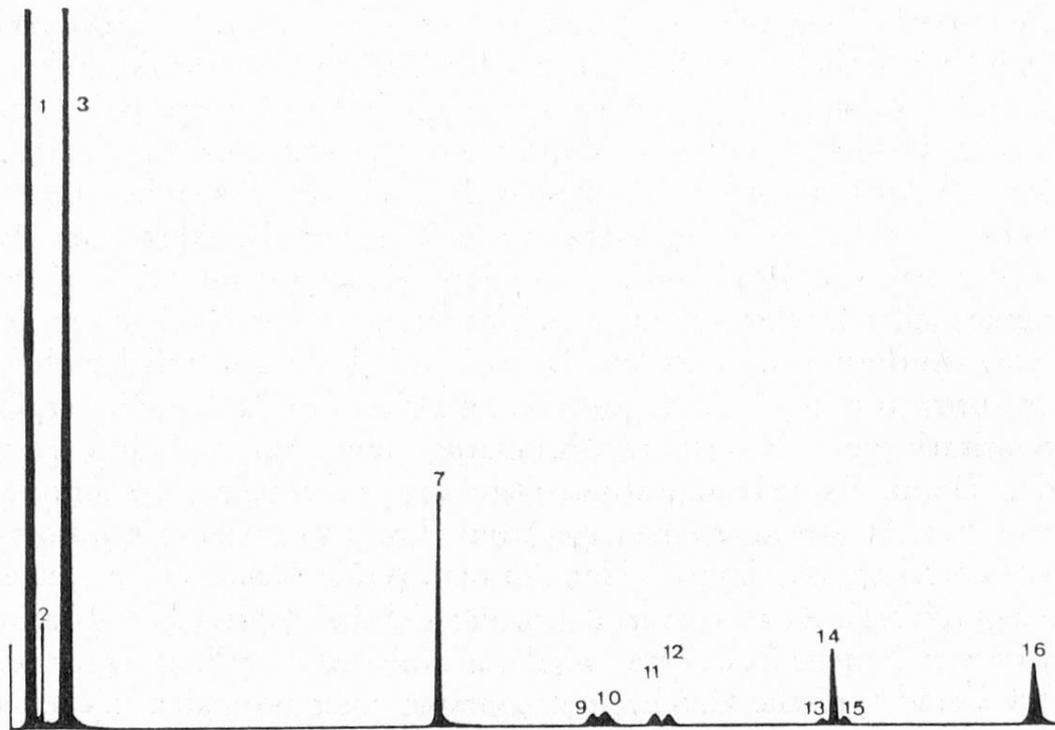
lyse erforderliche Konzentrierung und Trocknung leicht zu erzielen ist. Bei der Silylierung der Kohlenhydrate mit Hilfe von Trimethylchlorsilan neben Hexamethyldisilazan und Pyridin wirken sich nämlich bereits Spuren von Wasser sehr störend aus, indem damit Hexamethyldisiloxan entsteht. Dagegen vermindert sich die Wasserempfindlichkeit der Reaktion bei Verwendung von Trifluoressigsäure (40—41) ganz wesentlich. Die Silylierung der Zucker mit dem konfektionierten Präparat «Tri-Sil-Z» von Pierce lieferte keine befriedigenden Ergebnisse, da insbesondere die Reaktionsausbeute von Maltotriose und -tetraose zu niedrig ausfiel. Als interner Standard eignet sich am besten die vielfach verwendete Phenyl- β -D-Glucopyranose. Für die gaschromatographische Trennung bewährte sich als stationäre Phase der temperaturbeständige, unpolare Silicongummi SE-30 Ultraphase. Bei Bestimmung aller Zucker ist nur durch programmiertes Hochheizen der Säule eine sehr gute Auflösung zu erzielen. Da sich bei den erforderlichen hohen Arbeitstemperaturen bis zu 375 °C stets eine Drift der Null-Linie ergibt, sind schöne, quantitativ gut auswertbare Chromatogramme nur mit Hilfe eines kompensierenden Doppelflammenionisations-Detektors zu erzielen. In unserem Falle benutzen wir zur Auswertung einen elektronischen Integrator mit automatischer Null-Linien-Korrektur des Typs Vidar Autolab 6300. Das von uns angewandte gaschromatographische Analysenverfahren, das sich bei zahlreichen Routineuntersuchungen bereits bestens bewährte, wird im Anhang detailliert beschrieben. In Figur 1 und 2 sind typische Gaschromatogramme einer normalen Würze und des



Figur 1. Gaschromatogramm der TMS-Derivate von Kohlenhydraten aus einer normalen hellen Betriebswürze

1 und 2 = Lösungsmittel, 3 = Glycerin, 4 = Fructose, 5 = α -Glucose, 6 = β -Glucose, 7 = Phenyl- β -D-Glucopyranose (interner Standard), 8 = Saccharose, 9 = α -Maltose, 10 = β -Maltose, 11 = α -Iso-Maltose, 12 = β -Iso-Maltose, 13 = Raffinose, 14 = Maltotriose, 15 = Iso-Maltotriose, 16 = Malto-tetraose.

entsprechenden Ausstoßbieres abgebildet. Beiläufig sei hier noch erwähnt, daß sich mit dem gleichen Verfahren auch Glycerin und Ascorbinsäure quantitativ bestimmen lassen.



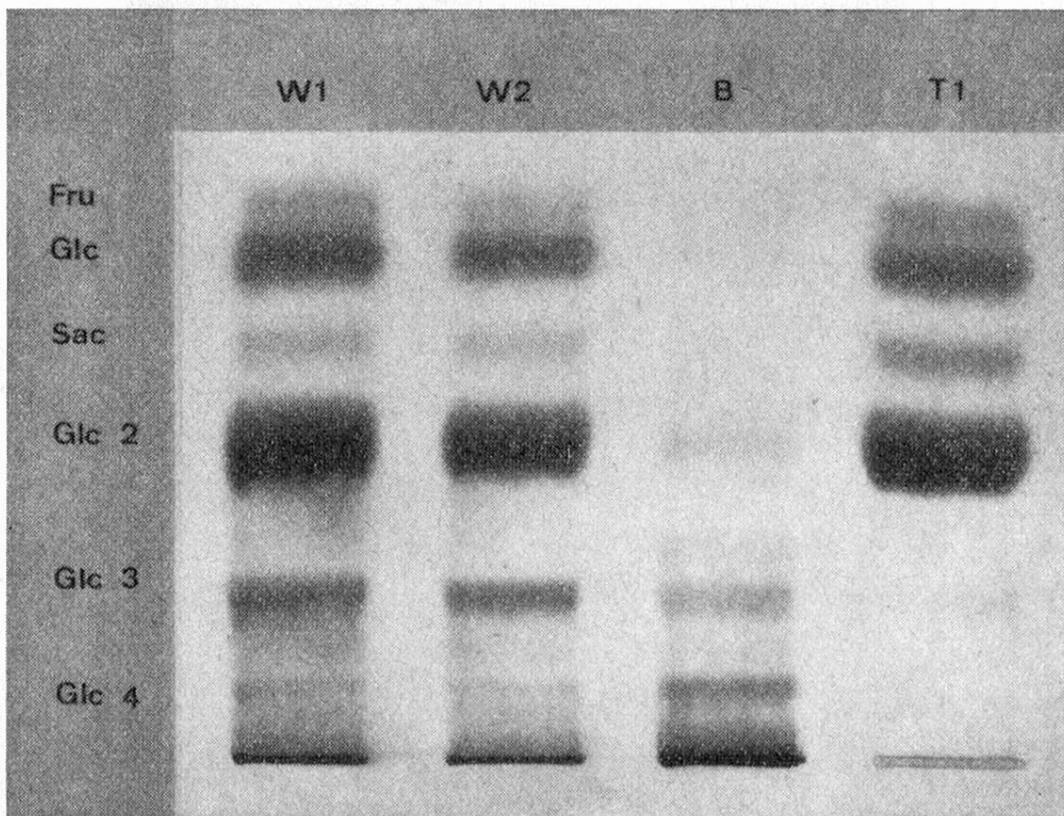
Figur 2. Gaschromatogramm der TMS-Derivate von Kohlenhydraten aus einem normalen hellen Lagerbier

1 und 2 = Lösungsmittel, 3 = Glycerin, 7 = Phenyl- β -D-Glucopyranose (interner Standard), 9 = α -Maltose, 10 = β -Maltose, 11 = α -Iso-Maltose, 12 = β -Iso-Maltose, 13 = Raffinose, 14 = Maltotriose, 15 = Iso-Maltotriose, 16 = Maltotetraose.

Bei der Entwicklung einer Methode zur Bestimmung der Oligo-Saccharide war es zunächst für die Beurteilung des Trenneffektes nötig, über ein definiertes Testgemisch zu verfügen. Da einzelne Glucose-Polymeren teils im Handel überhaupt nicht erhältlich oder sehr teuer sind, stellten wir zunächst durch eine schonende partielle Säurehydrolyse von reiner Amylose selbst ein Gemisch der entsprechenden Malto-Saccharid-Homologen her. Durch das Fehlen der isomeren Komponenten ließen sich, ausgehend von der monomeren Glucose, die diversen Oligomeren einfach ermitteln. Später verwendeten wir der Einfachheit halber auch ein uns zur Verfügung gestelltes Stärkesirup-Präparat, in dem keine isomeren Kohlenhydrate nachzuweisen waren. Bei der Wahl geeigneter Dünnschichtplatten galt es, im Hinblick auf eine spätere Quantifizierung der Methode, verschiedenen Forderungen Rechnung zu tragen. So muß das Trägermaterial säurestabil und kohlenhydratfrei sein. Ein Abkratzen der Schicht wollten wir umgehen und die Elution der Saccharide möglichst einfach gestalten. Bei entsprechenden Vorversuchen mit diversen Sorptionsmitteln erwiesen sich die von uns bereits früher zur Bitterstoffbestimmung (49) verwendeten, mit Kieselgel beschichteten, säurestabilen DC-Fertigplastikfolien von Schleicher & Schüll als am besten geeignet. Das

Auftragen von Proben auf die Startlinie erfolgte stets strichweise unter Verwendung einer sogenannten Winkelkapillarpipette (50). Dieses selbstgefertigte, etwa 5 cm lange, auf 10 und 20 Mikroliter geeichte Gerät erlaubt eine gute Beobachtung des Auftragvorganges. Das in einer wäßrig-methanolischen Lösung enthaltene Substanzgemisch kann man durch Anblasen mit einem Warmluftstrom von etwa 50 ° C rasch antrocknen. Da die Kieselgelschichten ohne Nachtrocknung nur wenig aktiv und die Oligo-Saccharide relativ schwach hydrophile Stoffe sind, war nur die Verwendung von stark polaren Fließmitteln erfolgversprechend. Darüber hinaus sollte den Lösungsmitteln mit einem höheren Dampfdruck bzw. niedrigeren Siedepunkt der Vorrang gegeben werden, da man hiermit eine raschere Kammersättigung, eine gute Trennschärfe und verhältnismäßig kurze Laufzeiten erwarten konnte. Für die Trennung der niedermolekularen Kohlenhydrate erwies sich das Fließmittelgemisch aus Wasser, Methanol und Aceton im Verhältnis von 14 + 1 + 85 als am vorteilhaftesten. Damit lassen sich bei einer Laufzeit von etwa 70 Minuten, wie Figur 3 zeigt, neben Glucose, Maltose und -triose auch Fructose und Saccharose gut abtrennen.

Was die Oligo-Saccharide betrifft, so gelang deren Fraktionierung unter Verwendung des Fließmittelgemisches aus den gleichen Komponenten Wasser, Methanol und Aceton, aber im Verhältnis von 30 + 5 + 65, bis zum Polymeren mit

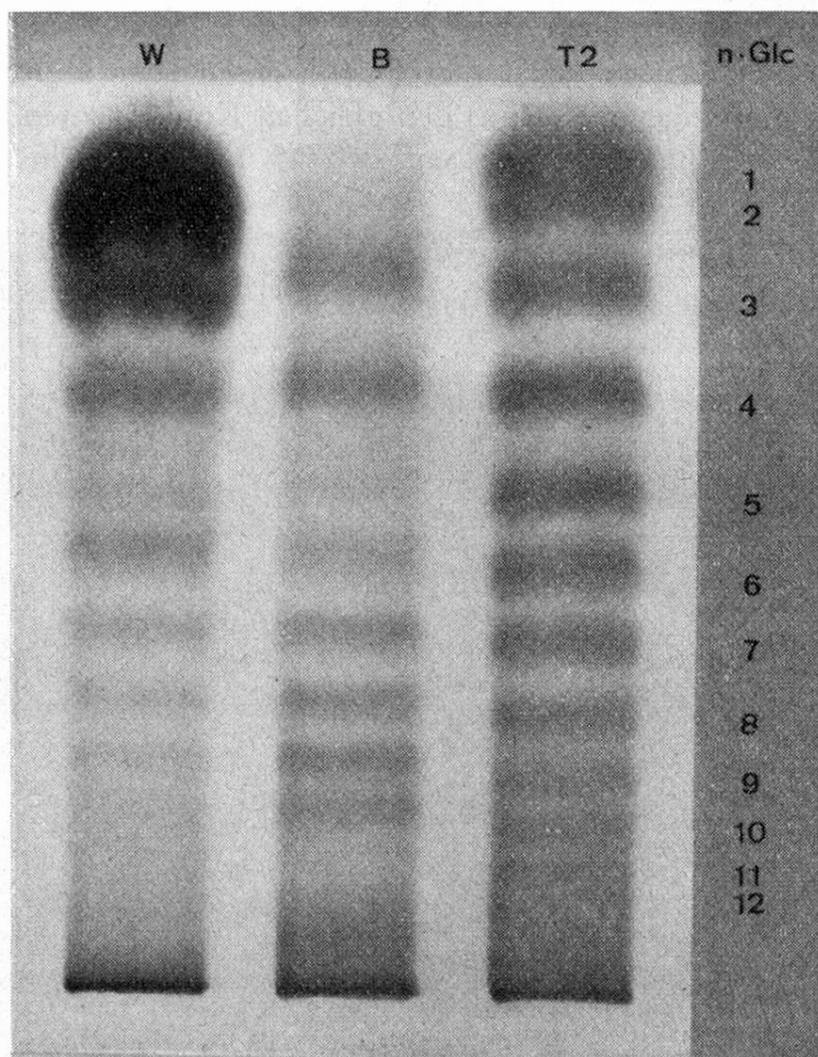


Figur 3. Dünnschichtchromatographische Trennung von Zuckern

- W 1 = vorbereitete Würzprobe, 20 μ l aufgetragen ;
- W 2 = vorbereitete Würzprobe, 10 μ l aufgetragen ;
- B = vorbereitetes normales helles Lagerbier, 50 μ l aufgetragen ;
- T 1 = Testlösung 1 mit 0,05 g Fructose, 0,20 g Glucose und 0,05 g Saccharose und 1,00 g Maltose pro 100 ml, 25 μ l auftragen.

maximal 13 Glucose-Einheiten. Aus dem in Figur 4 abgebildeten Chromatogramm läßt sich allerdings nur die Auftrennung bis zur Malto-Undecaose erkennen, was jedoch auf Reproduktionsschwierigkeiten zurückzuführen ist. Die mittlere Laufzeit betrug bei Verwendung des zuletzt erwähnten Fließmittels nur etwa 120 Minuten.

Eine rasche und scharfe dünnschichtchromatographische Trennung eines Substanzgemisches ist bekanntlich am ehesten in einer mit Fließmittel gesättigten Atmosphäre möglich. Diese wird am besten in einer sogenannten «Sandwich-Kammer» erzielt (51). Da die Fertigplastikfolien in Gegensatz zu den sonst gebräuchlichen Glasplatten flexibel sind, benötigt man eine spezielle Halterung. Von Eastman wurde dieses Problem auf ideale Weise gelöst, indem deren Chromatogramm-Kammer aus zwei auf der Innenseite mit Glasnoppen versehenen Platten besteht, die eine vollkommen plane Fixierung der Folie erlauben. Es zeigte sich, daß es sogar noch besser ist, die Kammer nur aus einer derart



Figur 4. Dünnschichtchromatographische Trennung von Maltooligosacchariden

- W = vorbereitete normale helle Betriebswürze mit 11,4% Stammwürze, 40 μ l aufgetragen ;
- B = vorbereitetes normales helles Lagerbier, 50 μ l aufgetragen ;
- T 2 = Testlösung 2 mit 2,5 g Stärkesirup pro 100 ml, 20 μ l aufgetragen ;
- n · Glc = Polymerisationsgrad der Oligosaccharide (z. B. 4 = Maltotetraose).

beschaffenen Platte zusammen mit einer normalen, etwa 5 mm dicken Glasscheibe zu bilden. Dadurch wird der Dampfraum noch kleiner. Aus der Prüfung des Temperatureinflusses auf die dünnschichtchromatographische Trennung der Malto-Saccharide ging hervor, daß sich bei niederen Temperaturen die höhermolekularen Kohlenhydrate zwar besser von der Grundlinie abheben, aber infolge der längeren Laufzeit weniger scharf trennen. Bei höheren Temperaturen tritt der umgekehrte Effekt ein. Als optimal erwies sich das Arbeiten bei Raumtemperatur (etwa 20 ° C). Zur Identifizierung der einzelnen Kohlenhydrate wird jeweils ein entsprechendes Testgemisch mitgeführt. Als Sprühmittel bewährte sich am besten ein Gemisch aus Phenol, Methanol und 50%iger Schwefelsäure. Für die quantitative Bestimmung wird das mit der Schere ausgeschnittene Stück Folie mit warmem destilliertem Wasser geschüttelt, bis sich ein Konzentrationsgleichgewicht zwischen Sorptionsmittel und Elutionslösung eingestellt hat. Um die bei der anschließenden kolorimetrischen Bestimmung störenden Kieselgel-Partikel abzutrennen, wird das Eluat zweckmäßigerweise vorher zentrifugiert. Zahlreiche Versuche zeigten, daß dieses Vorgehen zu gut reproduzierbaren Ergebnissen führt und einer mehrmaligen vollständigen Elution überlegen ist. Zur kolorimetrischen Bestimmung der Kohlenhydratkonzentration in den einzelnen Eluaten wurde die bekannte Phenol-Schwefelsäure-Reaktion verwendet, bei der alle Malto-Saccharide zu Furfural hydrolysiert werden. Diese Methode hat die Vorteile einer sehr hohen Nachweisempfindlichkeit sowie einer einfachen Durchführbarkeit. Zudem genügt für die Bestimmung der verschiedenen Malto-Saccharide in dem Falle eine einzige Eichkurve, im Gegensatz zu den reduktometrischen Verfahren. Detaillierte Angaben zur Durchführung der neuen Methode für die dünnschichtchromatographische Bestimmung von Malto-Sacchariden werden im Anhang mitgeteilt.

Methodik

1. Methode zur gaschromatographischen Bestimmung von Kohlenhydraten

Prinzip

Die Kohlenhydrate werden in Trimethylsilylderivate umgewandelt. Diese unpolaren flüchtigen Verbindungen lassen sich gaschromatographisch trennen und mittels eines Flammenionisationsdetektors nachweisen.

Apparate

- Vakuumrotationsverdampfer (Büchi, Flawil CH)
- Wasserbad 60—80 ° C (Lauda-Thermostat)
- Gaschromatograph Beckman-GC 5 mit «On-Column»-Einlaß, «Carrier Makeup» (zum Einblasen von zusätzlichem Trägergas zwischen Kolonnenausgang und Detektor, wodurch sich die Flamme von der Spitze des Brenners abhebt und diesen nicht so schnell verschmutzt) sowie Doppel-Flammenionisationsdetektor und Temperaturprogrammierung
- 2 Säulen aus Stahl, 3,50 m lang (Kontron, Zürich), Außendurchmesser 1/8", gefüllt mit Silicongummi SE-30 Ultraphase 3% auf Chromosorb W (HP) 80/100 mesh (Kontron, Zürich)

- Schreiber linear (Philips, Zürich)
- Elektronischer Integrator «autolab 6300» (Vidar autolab, Kelkheim D)
- Mikrospritze (0—5 μ l) mit Kolbenspitze aus Teflon, «Precision-Sampling» Serie C (Kontron, Zürich)
- Saugball
- graduierte Reagenzgläser mit Schliffstopfen (0—25 ml)
- Penicillinfläschchen (10 ml) mit Gummiseptum und Aluminiumkapsel
- Zange zum Verschließen der Penicillinfläschchen
- Methanol, zur Analyse (Merck)
- Ammoniak konzentriert, zur Analyse (Merck)
- Pyridin, zur Analyse (Merck)
- 1, 1, 1, 3, 3, 3-Hexamethyldisilazan, zur Synthese (Merck)
- Trifluoressigsäure, purum (Fluka, Buchs CH)
- Phenyl- β -D-Glucopyranose, purum (Fluka, Buchs CH)
- Standardlösung: 500 mg Phenyl- β -D-Glucopyranose in 100 ml Wasser
- D-(—)-Fructose, für biochemische Zwecke (Merck)
- D-(+)-Glucose, für biochemische Zwecke (Merck)
- D-(+)-Saccharose, für biochemische Zwecke (Merck)
- D-(+)-Maltose, für biochemische Zwecke (Merck)
- Maltotriose (Pierce, Rockford, Illinois USA)
- Maltotetraose (Pierce, Rockford, Illinois USA)

Ausführung der Bestimmung

Vorbereitung der Probe

- 5 ml Würze oder Bier in ein graduiertes Reagenzglas pipettieren und 15 ml Methanol zugeben,
- Reagenzglas verschließen und kurz von Hand kräftig schütteln (dabei werden hochmolekulare Stoffe ausgefällt und Enzyme inaktiviert, sodaß die Probe im Eisschrank mindestens eine Woche aufbewahrt werden kann),
- vor der Entnahme der klaren wäßrig-methanolischen Phase auf 20 ° C temperieren, Volumen mit Methanol auf 20 ml einstellen und mischen,
- 2 ml (Würze) bzw. 8 ml (Bier), etwa 15—20 mg Kohlenhydraten entsprechend, in einen 100-ml-Rundkolben pipettieren und 1 ml Standardlösung (enthält 5 mg Phenyl- β -D-Glucopyranose als interner Standard) zugeben,
- mittels Vakuumrotationsverdampfer im Wasserbad von 40—50 ° C bis zur völligen Trockene eindampfen (Wasserspuren stören die Silylierung!).

Silylierung der Kohlenhydrate

- Dem trockenen Rückstand im 100-ml-Rundkolben unter Verwendung des Saugballs 1,0 ml Pyridin zupipettieren und umschwenken, bis sich der größte Teil des Rückstandes gelöst hat,
- unter Verwendung des Saugballs 0,9 ml Hexamethyldisilazan und 0,1 ml Trifluoressigsäure zupipettieren,

- Rundkolben umschwenken bis sich der gesamte Rückstand gelöst hat und dann 30 Minuten bei Zimmertemperatur stehen lassen,
- Inhalt des Rundkolbens in ein Penicillinfläschchen dekantieren, mit Gummiseptum sowie Aluminiumkapsel dicht verschließen und dann während 30 Minuten in ein Wasserbad von 70 ° C stellen (von Zeit zu Zeit umschwenken),
- nach dem Abkühlen auf 20 ° C kann mit der Mikrospritze die Probe für die gaschromatographische Analyse sofort entnommen werden (die Probe ist bei 20 ° C eine Woche stabil).

Operationsparameter an Gaschromatograph, Schreiber und Integrator

Trennsäule		
Material		Stahl
Länge	cm	350
Durchmesser	inch	1/8
Säulenfüllung		
Trägermaterial		
(Chromosorb W, HP)	mesh	80—100
Stationäre Phase		
(Ultrapphase, SE-30)	%	3
Trägergas		N ₂
Gasdruck	atü	5
Durchfluß	ml/min	20
«Carrier Makeup» Durchfluß	ml/min	60
Temperatur		
Kolonne: Anfangstemperatur	° C	130
Heizrate	° C/min	5
Maximaltemperatur		
(während 10 Minuten)	° C	370
Einspritzblock («Inlet»)	° C	380
Detektorzuleitung («Detektor Line»)	° C	390
Detektor		
(Doppelflammenionisationsdetektor)		
Detektortemperatur	° C	410
Flammengas: Wasserstoff		
Gasdruck	atü	4
Durchfluß	ml/min	40
Luft gereinigt		
Gasdruck	atü	4
Durchfluß	ml/min	250—300

Elektrometer		
Empfindlichkeit eingestellt 1 K	A	$5,12 \cdot 10^{-7} - 5 \cdot 10^{-10}$
Gesamtbereich 1—10 K	A	$5,12 \cdot 10^{-6} - 5 \cdot 10^{-13}$
Ausgangsspannung zum Schreiber	mV	± 1
Ausgangsspannung zum Integrator	mV	± 1000
Unterdrückung: Schalter «High» Stellung		3
Bereich	A	$\pm 6,9 \cdot 10^{-11} - \pm 9,1 \cdot 10^{-9}$
Abschwächungsverhältnis		1
Schreiber (Philips)	linear	
Eingangsspannung	mV	1
Papiervorschub	mm/min	10
Elektronischer Integrator (Vidar autolab, Modell 6300)		
Eingangsspannung	mV	1000
Meßbereich	mV	0—1000
Empfindlichkeit	Imp./mVsec	1000
Abschwächungsverhältnis		32
Peak-Detektor:		
Flankensteilheit (Peakbreite in halber Höhe)	sec	8
Filter (Peakbreite in halber Höhe)	sec	8
Rauschsignalunterdrückung	Stellung	7
Basislinien-Korrekturrate	Stellung	normal
Probemenge (aus 2 ml Reaktionsgemisch)	μ l	0,8

Auswertung

Qualitative Auswertung

Bei den angegebenen Operationsparametern resultierten für die Trimethylsilyl-derivate der diversen Kohlenhydrate die in Tabelle 1 aufgeführten Retentionszeiten.

Quantitative Auswertung

Aufnahme der Eichkurven:

- Von jedem zu bestimmenden Zucker eine Stammlösung herzustellen: 200 mg Zucker in 50 ml Wasser lösen und bei 20 ° C mit Methanol auf 100 ml auffüllen;
- jeweils Zuckerlösung (Menge variabel) sowie Lösung des internen Standard (Menge konstant) in einen 100-ml-Rundkolben pipettieren, zum Einstellen des

Tabelle 1
Retentionszeit der Trimethylsilylderivate verschiedener Kohlenhydrate
(Richtwerte)

TMS-Derivat	Retentionszeit Minuten
β -Arabinose*	7,6/8,0
α -Xylose*	9,0/9,6
Fructose	10,9
α -Galactose*	20,0/21,1
α -Glucose	11,8
β -Glucose	12,9
α -Galacturonsäure*	13,4
Phenyl- β -D-Glucopyranose (interner Standard)	16,3
Saccharose	20,0
α -Maltose	20,4
β -Maltose	20,9
α -Isomaltose*	21,2
β -Isomaltose*	21,4
β -Cellobiose*	21,8
Raffinose*	26,5
α - und β -Maltotriose	27,3
α - und β -Maltotetraose	32,7

* Diese Kohlenhydrate treten im Chromatogramm einer normalen Bierwürze meist nur als Spuren in Erscheinung.

Mutarotationsgleichgewichts drei Tropfen Ammoniak zugeben, mittels Vakuumrotationsverdampfer im Wasserbad bei 40—50 ° C bis zur Trockene eindampfen und silylieren.

Für jeden Zucker sollten bei der Aufnahme der Eichkurve 4—5 Punkte mindestens im Doppel bestimmt werden. Die für die einzelnen Zucker angegebenen variierenden Mengenverhältnisse leiten sich von der Kohlenhydratzusammensetzung einer normalen Bierwürze ab.

- Silylierungsreaktionsgemische gemäß den angegebenen Bedingungen gaschromatographisch analysieren;
- bei jedem Chromatogramm den Quotienten der Flächenintegrale von Zucker zu internem Standard errechnen (bei Zuckern, die verschiedene Anomere bilden, sind die entsprechenden Flächenintegrale zu addieren); die Verwendung der Peakhöhe ist zu ungenau, da diese stark von den Operationsparametern am Gaschromatograph abhängig ist;
- Quotienten der Flächenintegrale von Zucker zu internem Standard auf der Ordinate gegen die entsprechende Menge an silyliertem Zucker (mg) auf der Abszisse auftragen.

Tabelle 2
Angaben zur Herstellung der Eichgemische

Zucker	Zuckerlösung ml	Zucker- menge mg	Standard- lösung ml	Standard- menge mg
Fructose	1	2	1	5
	2	4	1	5
	3	6	1	5
	4	8	1	5
	5	10	1	5
Glucose	1	2	1	5
	8	16	1	5
Saccharose	1	2	1	5
	5	10	1	5
Maltose	2	4	1	5
	12	24	1	5
Maltotriose	1	2	1	5
	5	10	1	5
Maltotetraose	1	2	1	5
	5	10	1	5

Tabelle 3
*Eichfaktoren für die quantitative gaschromatographische Bestimmung
verschiedener Kohlenhydrate*

Kohlenhydrat	Eichfaktor tg α
Fructose	0,235
Glucose	0,259
Saccharose	0,225
Maltose	0,203
Isomaltose	0,143
Maltotriose	0,168
Maltotetraose	0,085

Berechnung des Zuckergehaltes:

Beispiel: α -Glucose

$$\alpha\text{-Glucose} \frac{\text{g}}{100 \text{ ml}} = \frac{Q \alpha\text{-Glc/I. St.} \times V \times 100}{\text{Faktor} \times W \times v \times 1000}$$

Q α -Glc/I. St.	=	Quotient der Flächenintegrale von α -Glucose zu internem Standard
Faktor	=	Eichfaktor tg α für Glucose (Summe der Anomeren)
V	=	Gesamtvolumen von Würze bzw. Bier und Methanol
v	=	Volumen des eingedampften Würze-Methanolgemisches
W	=	einpipettiertes Würzeausgangsvolumen bzw. Bierausgangsvolumen
α -Glucose g/100 ml		$\frac{0,706 \times 20 \times 100}{0,260 \times 2 \times 5 \times 1000} = 0,543$

2. Methode zur Schnellbestimmung der Oligosaccharide mittels Dünnschichtchromatographie-Fertigplastikfolien

Prinzip

Die zu untersuchenden Proben werden zunächst zur Haltbarmachung sowie zur Ausfällung von störenden hochmolekularen Stoffen mit Methanol verdünnt. Das neue Analysenverfahren ist ferner dadurch gekennzeichnet, daß die Oligosaccharide auf kieselgelbeschichteten Plastikfolien dünnschichtchromatographisch getrennt, mit warmem destilliertem Wasser aus den mit der Schere ausgeschnittenen Folienstückchen eluiert und nach Durchführung der Reaktion mit Phenol-Schwefelsäure photometrisch bestimmt werden.

Apparate und Reagenzien

- Photometer (mit Filter für 487 nm)
- Entwicklungskammer, Eastman Chromatogram Chamber, Plate set (Bender & Hobein, Zürich)
- Glasplatte (23×23 cm, etwa 0,5 cm dick)
- Mikropipette (0—30 μ l)
- Fön (Warmluft von etwa 50 ° C)
- Trockenschrank (etwa 105 ° C)
- Wasserbad (70—80 ° C)
- Zentrifuge (2000 UpM)
- 50-ml-Weithals-Erlenmeyerkolben mit Schliffstopfen
- konische Zentrifugengläser (15 ml)
- DC-Fertigplastikfolien F 1500 Kieselgel, säurestabil (Schleicher & Schüll)
- «Oxford-Pipettor» (Kontron, Zürich)
- Schere
- Methanol, zur Analyse
- destilliertes Wasser
- Aceton, zur Analyse
- konzentrierte Schwefelsäure, zur Analyse
- Phenol, zur Analyse (Merck)
- Glucose, für biochemische Zwecke (Merck)

- Fructose, für biochemische Zwecke (Merck)
- Saccharose, für biochemische Zwecke (Merck)

Fließmittel für die Trennung der Oligosaccharide: Aceton, Methanol und Wasser im Verhältnis von 65 + 5 + 30 Volumenteilen mischen.

Fließmittel für die Trennung der Zucker: Aceton, Methanol und Wasser im Verhältnis von 85 + 1 + 14 Volumenteilen mischen.

Phenollösung: 80 g Phenol in 20 ml dest. Wasser lösen.

Sprühreagenz: 1 g Phenol in einem Gemisch aus 50 ml Methanol und 50 ml 50%iger Schwefelsäure lösen.

Ausführung der Bestimmung

Vorbereitung der zu untersuchenden Proben wie Maische, Würze, Bier usw. gleich wie bei der Ausführung der gaschromatographischen Bestimmung.

Chromatographische Trennung:

- 20—60 μ l der klaren wäßrig-methanolischen verdünnten Probe (bei einem Extraktgehalt der Ausgangsprobe von 12,0 Gew./Gew.-% und Bestimmung der Oligosaccharide 50 μ l oder 60 μ l; bei Bestimmung der vergärbaren Zucker 30 μ l oder 40 μ l) mit der Mikropipette in dünnen Strichen von 2,5 cm Länge auf der Startlinie 1,5 cm vom unteren Rand der Folie in Abständen von 1,5 cm, vom seitlichen Rand im Abstand von 2,75 cm, ziehend auftragen und unverzüglich durch Anblasen mit Warmluft von etwa 50 ° C trocknen,
- Glastrog des Eastman «Plate set» mit Kunststoffdeckel verschließen,
- Folie mit Plastikseite auf die Glasplatte bringen,
- von einer der speziellen Glasplatten der Eastman-Entwicklungskammer den Abdichtungstreifen am Rand mit Siliconfett gleichmäßig bestreichen,
- Glasplatte mit der genoppten Seite vorsichtig auf die Folie legen,
- beide Platten mit den Klammern so befestigen, daß der Anpreßdruck nur auf den Rand der Platten wirkt,
- die so gebildete «Sandwich»-Kammer durch den Schlitz des Deckels in den Glastrog stellen,
- in den verbleibenden schmalen Schlitz zwischen der Vorderseite der Kammer und dem Kunststoffdeckel soviel auf die ganze Länge des Troges verteilend eingießen, daß sich der Flüssigkeitsspiegel etwa in der Mitte zwischen dem unteren Rand der Trägerschicht und der Startlinie befindet,
- Fließmittel so lange laufen lassen, bis es den oberen Rand der Schicht fast (1 mm) erreicht hat,
- Chromatogramm herausnehmen und an der Luft etwa 15 Minuten trocknen lassen,
- mit einem spitzen harten Bleistift die Bereiche der vier auf einer Folie hergestellten Chromatogramme anzeichnen (bis auf Plastikfolie durchdrücken),
- die beiden äußeren Chromatogramme mit der Schere von den zwei mittleren abtrennen, zur Identifizierung mit dem Phenol-Schwefelsäure-Reagenz aus-

- reichend besprühen und dann während etwa 15 Minuten im Trockenschrank auf 105 ° C erhitzen,
- die unbehandelten Chromatogramme zwischen die zwei angefärbten legen und mit einem harten spitzigen Stift durch Querlinien die einzelnen Kohlenhydratbanden markieren,
 - die Kohlenhydratzonen der Folie ausscheiden und jedes Stück in einen verschließbaren 50-ml-Weithals-erlenmeyerkolben geben.

Elution und kolorimetrische Bestimmung:

- 10 ml destilliertes Wasser zusetzen und den verschlossenen Weithals-Erlenmeyerkolben während 15 Minuten im Wasserbad von 70 ° C unter gelegentlichem Schütteln erwärmen (wenn auf den Vergleichschromatogrammen die Kohlenhydratbanden nur eine schwache Farbreaktion erkennen lassen, dann zur Elution 5 ml dest. Wasser verwenden),
- Elutionslösung im Erlenmeyerkolben auf 20 ° C temperieren, dann in ein Zentrifugenglas dekantieren und während zwei Minuten bei 2000 UpM zentrifugieren,
- von der überstehenden klaren Lösung genau 4 ml in ein verschließbares Reagenzglas pipettieren,
- 0,175 ml 80%ige Phenollösung zugeben,
- mittels eines «Oxford Pipettors» innerhalb von etwa 3 Sekunden 10 ml konzentrierte Schwefelsäure einspritzen,
- Reagenzglas mit Schliffstopfen verschließen, durch Umkippen bei gleichzeitigem Andrücken des Stopfens den Inhalt mischen und den Ueberdruck im Reagenzglas vorsichtig ablassen,
- Reagenzglas mindestens 15 Minuten lang bei Zimmertemperatur stehen lassen und dann während 10 Minuten im Wasserbad auf 20 ° C temperieren,
- Reaktionslösung im Photometer bei der Wellenlänge von 487 nm gegen ein gleichbehandeltes Eluat aus einer ungebrauchten Zone der Folie messen (erweist sich das Eluat aus einem Stück einer unbenützten Schicht einer Packung als kohlenhydratfrei, so kann anstelle des Eluates auch destilliertes Wasser verwendet werden).

Quantitative Auswertung

Aufnahme der Eichkurven:

- Von jedem der Zucker Glucose, Fructose und Saccharose eine Stammlösung herstellen: 250 mg Zucker in 50 ml dest. Wasser lösen und bei 20 ° C mit Methanol auf 100 ml auffüllen,
- a) Eichkurven ohne Berücksichtigung der dünnschichtschromatographischen Trennung:
 - 10, 20, 30, 40, 50 bzw. 60 µl der Zuckerstammlösung in je ein graduiertes Reagenzglas pipettieren und mit dest. Wasser auf 4 ml auffüllen,
 - weiter verfahren wie unter kolorimetrische Bestimmung angeben.

- b) Eichkurven mit Berücksichtigung der dünnschichtchromatographischen Trennung:
- 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140 bzw. 150 μl der Zuckerstammlösung auf Dünnschicht in 2,5 cm langen dünnen Strichen auftragen und wie unter chromatographischer Trennung sowie Elution und kolorimetrischer Bestimmung angegeben weiterfahren (zur Elution stets 10 ml dest. Wasser verwenden).
 - gemessene Extinktionswerte nach Abzug des Blindwertes im Koordinatensystem auf der Ordinate und die Menge an Zucker in 4 ml Eluat bzw. im Reaktionsansatz auf der Abszisse auftragen.

Tabelle 4

Eichfaktoren für die quantitative dünnschichtchromatographische Bestimmung verschiedener Kohlenhydrate

Zucker	Eichfaktor*
Glucose	4,57
Fructose	2,82
Saccharose	3,93
Maltose	4,57

* Steigung der Eichkurven ($\text{tg } \alpha$)

Für die Berechnung der Gehalte der Maltooligosaccharide wird der Eichfaktor für Glucose bzw. Maltose verwendet.

Berechnung:

$$\text{Kohlenhydrat g/100 ml} = \frac{\text{gemessene Extinktion bei 487 nm} \cdot \text{ml dest. Wasser} \cdot \text{ml methanol. Lösung}}{\text{Eichfaktor} \cdot \text{ml aufgetragen} \cdot \text{ml Eluat} \cdot \text{ml Würze bzw. Bier} \cdot 10}$$

Berechnungsbeispiel:

$$\text{Maltohexaose g/100 ml} = \frac{0,060 \cdot 5 \cdot 20}{4,57 \cdot 0,060 \cdot 4 \cdot 5 \cdot 10} = 0,11$$

Bemerkungen:

- Das zur Elution verwendete Wasser muß kohlenhydratfrei sein (am besten bidestilliertes Wasser verwenden). Der Einsatz von Wasser aus dem Ionenaustauscher kann leicht zu falschen Ergebnissen führen, da sich dort vielfach Bakterien ansiedeln.

- Bei der Durchführung der Analysen muß äußerst sauber gearbeitet werden, da infolge der hohen Empfindlichkeit die Phenol-Schwefelsäurereaktion bereits geringste Spuren an Kohlenhydraten aus Staub, von verschmutzter Arbeitsfläche, von Händen, Geräten usw. große Fehler verursachen können.
- Das Geschirr sollte vor dem Gebrauch besonders sorgfältig gereinigt, gespült und lediglich für die Durchführung dieser Methode verwendet werden.
- Das Mischen der Reaktionslösung sollte vor dem Messen der Extinktion sehr vorsichtig erfolgen, da beim Schütteln der relativ stark viskosen Flüssigkeit leicht feine Luftbläschen eingeschlossen werden, was zu überhöhten Werten führt.
- Bei Einsatz von neuen Reagenzienchargen empfiehlt es sich, die Eichkurven wieder zu überprüfen.

Zusammenfassung

Nach eingehender Prüfung der zur Analyse von Malto-Sacchariden verwendbaren Methoden wurde festgestellt, daß man die Zucker am besten gaschromatographisch nach vorgängiger Silylierung erfaßt. Für die Bestimmung der Oligo-Saccharide erwies sich ein neuentwickeltes chromatographisches Verfahren mittels Dünnschicht-Fertigplastikfolien als gut geeignet. Damit kann man in zwei Stunden die Kohlenhydrate bis zum Polymeren mit maximal 13 Glucose-Einheiten trennen. Durch Variation des Fließmittels ist es zudem möglich, mit der gleichen Methode auch die Zucker zu fraktionieren. Sowohl für die gaschromatographische als auch dünnschichtchromatographische Analyse werden detaillierte Arbeitsvorschriften angegeben.

Der Stiftung für wissenschaftliche Forschung des Schweizerischen Bierbrauervereins danken wir für die finanzielle Unterstützung der vorliegenden Arbeit bestens.

Literatur

1. Pawlowski F. und Schild E.: Die Brautechnischen Untersuchungsmethoden 8. Aufl., Verlag Hans Carl, Nürnberg, 162 (1961).
2. Kleber W., Kamm G., Kuroiwa Y. und Komiya Y.: Brauwelt **109**, 1225 (1969).
3. Kolbach P. und Maas H.: Brauerei, Wiss. Beil. **2**, 73 (1949).
4. Steiner K. und Stocker H. R.: Schweiz. Br.-Rdsch. **75**, 3 (1964).
5. Hansen E. C.: Wschr. Brauerei **5**, 631 (1888).
6. Blom J. und Schwarz B. J.: J. Inst. Brew. **56**, 240 (1949).
7. Steiner K. und Stocker H. R.: Schweiz. Br.-Rdsch. **77**, 341 (1966).
8. Weinfurtner F., Wullinger F. und Piendl A.: Brauwiss. **20**, 175 und 181 (1967).
9. Silbereisen K. und Kremkow C.: Mschr. Brauerei **19**, 70 und 115 (1966).
10. Gutmann I.: Z. Analyt. Chem. **252**, 234 (1970).
11. Drawert F. und Hagen W.: Brauwiss. **23**, 95 (1970).
12. Bergmeyer H. U.: Methoden der enzymatischen Analyse, 2. Aufl., **2**, Verlag Chemie, Weinheim (1970).

13. *Enevoldsen B. S.* und *Bathgate G. N.*: J. Inst. Brew. **75**, 433 (1969).
14. *Gjertsen P.*: Proc. Europ. Brew. Conv., 5th Congr. Baden-Baden, Verlag Elsevier, Amsterdam, 37 (1955).
15. *Pan S. C.*, *Nicholson L. W.* und *Kolachov P.*: Analyt. Chemistry **25**, 232 (1953).
16. *Kleber W.*, *Runkel U. D.* und *Seyfarth I.*: Brauwiss. **14**, 65 (1961).
17. *Kocková-Kratochvilová A.*, *Vojtková-Lepšíková A.* und *Fischerová M.*: Brauwiss. **12**, 110 (1959).
18. *Stocker H. R.*: Schweiz. Br.-Rdsch. **72**, 41 (1961).
19. *Stöckli A.*: Schweiz. Br.-Rdsch. **65**, 175 (1954) und **67**, 1 (1956).
20. *Enevoldsen B. S.*: Dextrins in Brewing, Research Lab., Tuborg Breweries Ltd., Copenhagen (1969).
21. *Stocker H. R.*: Schweiz. Br.-Rdsch. **74**, 231 (1963).
22. *Erdal K.*: Brygmesteren **21**, 281 (1964).
23. *Bracher C. G.* und *Banly L. E.*: Brew. Guild J. **51**, 67 (1965).
24. *Haeseler G.* und *Misselhorn K.*: ZLUF **129**, 222 (1965).
25. *Pastuszyn A.* und *Michl H.*: Mitt. Versuchsst. Gärungsgew. Wien **20**, 1 (1966).
26. *Tanner H.*: Obst- und Weinbau **102**, 261 (1966).
27. *Franken-Luykx J. M. M.* und *Klopper W. J.*: Brauwiss. **20**, 173 (1967).
28. *Kleber W.* und *Klopper J.*: Brauwiss. **21**, 81 (1968).
29. *Scherz H.*, *Steblik G.*, *Bancher E.* und *Kaindl K.*: Chromatogr. Rev. **10**, 1 (1968).
30. *Haytko P.*, *Burns R.* und *Weill C. E.*: Cereal. Chem. **46**, 177 (1969).
31. *Wiele H.* und *Horak E.*: J. Chromatogr. **47**, 527 (1970).
32. *Otter G. E.*, *Popplewell J. A.* und *Taylor L.*: Proc. Europ. Brew. Conv., 12th Congr. Interlaken, Verlag Elsevier, Amsterdam, 481 (1970).
33. *Silbereisen K.* und *Bielig H. J.*: Proc. Europ. Brew. Conv., 8th Congr., Vienna, Verlag Elsevier, Amsterdam, 421 (1961).
34. *Chrums S. C.*, *Stephen A. M.* und *van der Bijl P.*: J. Chromatogr. **47**, 97 (1970).
35. *Dellweg H.*, *Trénel G.*, *John M.* und *Emeis C. C.*: Mschr. Brauerei **22**, 177 (1969).
36. *Bathgate G. N.*: J. Chromatogr. **47**, 92 (1970).
37. *Sweeley C. C.*, *Bentley R.*, *Makita M.* und *Wells W. W.*: J. Americ. Chem. Soc. **85**, 2497 (1963).
38. *Bishop C. T.*, *Cooper F. P.* und *Murray R. K.*: Can. J. Chem. **41**, 2245 (1963).
39. *Bishop C. T.*: Advan. Carbohydrate Chem. **19**, 95 (1964).
40. *Brobst K. M.* und *Lott C. E.*: Cereal Chem. **43**, 35 (1966).
41. *Brobst K. M.* und *Lott C. E.*: Proc. Americ. Soc. Brew. Chem. 71 (1966).
42. *Marinelli B. A.* und *Whitney B. S.*: J. Inst. Brew. **72**, 252 (1966) und **73**, 35 (1967).
43. *Otter G. E.* und *Taylor L.*: J. Inst. Brew. **73**, 570 (1967).
44. *Clapperton J. F.* und *Holliday A. G.*: J. Inst. Brew. **74**, 164 (1968).
45. *Tuning B.*: Int. T. Brouw. Mout. **28**, 113 (1968/69).
46. *Shaw D. H.* und *Moss G. W.*: J. Chromatogr. **41**, 350 (1969).
47. *Bärwald G.* und *Niefind H. J.*: Tztg. Brauerei **66**, 780 (1969).
48. *Pfenninger H.*, *Schur F.*, *Scherrer A.*, *Lösch M.* und *Ullmann F.*: Schweiz. Br.-Rdsch. **82**, 233 (1971).
49. *Schur F.* und *Pfenninger H.*: Brauwiss. **24**, 151 (1971).
50. *Stocker H. R.*: Helvetica Chimia Acta **46**, 230 (1963).
51. *Przyblowicz E. P.*, *Staudenmayer W. J.*, *Perry E. S.*, *Baitsholts A. D.* und *Tischer T. N.*: Conference on Analytical Chemistry and Applied Spectroscopy, Pittsburgh, 1 (1965).

Der Einfluß unterschiedlicher Hitzebehandlung einiger Tierkörperbestandteile auf den Gehalt an Aminosäuren insgesamt und in Enzymhydrolysaten*

Einleitung

Fleisch- und Tierkörpermehle spielen als proteinreiche Futtermittel eine beträchtliche Rolle. Ihre Qualität als Proteinlieferanten für anspruchsvolle Tiere, z. B. Geflügel und Schweine, wird zur Hauptsache durch den Gehalt an verfügbaren essentiellen Aminosäuren bestimmt. Sie kann große Unterschiede aufweisen und entspricht oft nicht den Erwartungen bezüglich hochwertiger Proteinträger tierischer Herkunft. Als Grund hierfür kommt zunächst die unterschiedliche und oft relativ ungünstige Zusammensetzung der verarbeiteten Rohstoffe in Frage. Darüber hinaus wird aber auch immer wieder darauf hingewiesen, daß die Proteine durch Hitzeeinwirkungen bei Sterilisation und Trocknung stark geschädigt werden können. Um weitere Hinweise über die Bedeutung dieser qualitätsbeeinflussenden Faktoren zu erhalten, wurden einige ausgewählte tierische Gewebe auf ihren Gehalt an Aminosäuren und deren Verfügbarkeit untersucht. In Modellversuchen wurde die Wirkung unterschiedlich starker Erhitzung auf die vorerwähnten Qualitätskriterien bestimmt.

Material

Die folgenden tierischen Gewebe, die neben anderen bei der Fleischmehlherstellung Verwendung finden, wurden untersucht: Herz- und Skelettmuskulatur (Rind), Haut (Rind), Euter, Lunge (Schwein) und Ohren (Schwein). Alle Gewebe wurden zunächst gefriergetrocknet. Zur Feststellung des Einflusses von Hitze wurden Proben davon in einem Autoklaven lufttrocken oder nach Wasserzusatz (Wassergehalt 50 %) während 1 Stunde bei ca. 120 ° C gehalten. Mit Lunge wurde eine Erhitzungsreihe bei verschiedenen Temperaturen (100 ° C, 120 ° C, 140 ° C, 160 ° C) und während unterschiedlicher Zeitdauer (1, 3, 6 Stunden) durchgeführt.

Analysenmethoden

Die Proteinqualität wurde nach den folgenden Gesichtspunkten beurteilt:

- Aminosäuremuster des Produktes
- Verfügbares Lysin nach *Carpenter* (mod. nach *Otte* [1967])
- Aminosäuren im Enzymhydrolysat (Enzymatische Hydrolyse nach *Mauron* et al. [1955]).

* Die besprochenen Untersuchungen wurden durch den Schweizerischen Nationalfonds unterstützt.

Das Aminosäuremuster eines Produktes gibt einen potentiellen Proteinwert. Es gestattet keine Aussagen über die Verfügbarkeit der Aminosäuren für den tierischen Organismus. Die Verfügbarkeit des Lysins kann mit der Methode nach *Carpenter* auf relativ einfache Weise bestimmt werden. Anhaltspunkte über die Verfügbarkeit aller andern Aminosäuren sind nur auf Grund von Versuchen mit Tieren oder Mikroorganismen oder in Enzymtests zu gewinnen. Wir führten die Hydrolyse mit den Verdauungsenzymen Pepsin und Pankreatin in einem Dialyseschlauch durch. Im Dialysat wurde der Gehalt an Aminosäuren nach Säurehydrolyse bestimmt.

Ergebnisse**

1. Vergleich der gefriergetrockneten Gewebe

Aminosäuremuster

Die untersuchten Gewebe zeigen große Unterschiede in ihrem Gehalt an Aminosäuren. In Tabelle 1 wird der Aminosäuregehalt der Gewebe mit dem Bedarf des wachsenden Schweins verglichen.

Tabelle 1

Gehalt an essentiellen Aminosäuren verschiedener tierischer Gewebe im Vergleich mit dem Bedarf* des wachsenden Schweins (Bedarf = 100 ‰)

	Herz ‰	Muskel ‰	Lunge ‰	Euter ‰	Ohren ‰	Haut ‰
Theronin	154	164	132	129	86	71
Methionin + Cystin	104	106	106	90	48	38
Valin	144	141	173	154	99	70
Isoleucin	128	135	96	106	58	51
Leucin	226	216	210	176	112	85
Phenylalanin	135	125	135	112	86	67
Lysin	178	199	146	128	91	85
Tryptophan	185	210	148	136	49	12

* Bedarfszahlen nach NRC 1968.

Herz- und Skelettmuskulatur decken den Bedarf des Schweins an allen Aminosäuren. Bei Threonin, Leucin, Lysin und Tryptophan ist ein großer Ueberschuß vorhanden. In Lunge und Euter ist der Gehalt an Isoleucin und Cystin/Methionin knapp genügend beziehungsweise defizitär. Der Ueberschuß an Threonin, Lysin und Tryptophan ist geringer als bei Herz- und Skelettmuskulatur. Haut und Ohren zeigen ein Defizit an praktisch allen essentiellen Aminosäuren. Von den Futtermitteln tierischer Herkunft wird eine gute Ergänzungswirkung zu den pflanz-

** Es kann nur eine Auswahl der Resultate dargestellt werden. Eine ausführliche Publikation ist vorgesehen.

lichen Grundfuttermitteln (Getreide), die oft einen Mangel an Methionin, Lysin und Tryptophan aufweisen, erwartet. Fleischmehle mit einem hohen Gehalt an Proteinen wie Haut und Ohren vermögen diese Forderung nicht zu erfüllen.

Aminosäuren in den Enzymhydrolysaten

Zwischen den nicht erhitzten Geweben konnten keine wesentlichen Unterschiede in Bezug auf die enzymatische Löslichkeit festgestellt werden. Auf eine Wiedergabe der Einzelresultate wird daher an dieser Stelle verzichtet.

2. Einfluß einer Erhitzung der nassen Gewebe auf 120 ° C während 1 Stunde

Einfluß auf den Gehalt an Aminosäuren und verfügbarem Lysin

Die analytische Bestimmung des Aminosäurenmusters in den erhitzten Geweben zeigte nur für Cystin, Lysin und verfügbares Lysin eine deutliche Abnahme des Gehaltes (Tabelle 2). Der Anteil an verfügbarem Lysin ging durch die Erhitzung bedeutend stärker zurück als der Gehalt an Gesamtlysin.

Tabelle 2

Abnahme des Gehaltes an Cystin, Lysin und verfügbarem Lysin nach nasser Erhitzung verschiedener Gewebe auf 120 ° C während einer Stunde

	Herz %	Muskel %	Lunge %	Euter %	Ohren %	Haut %
Cystin	27	25	15	25	(—)*	(—)*
Lysin	9	7	7	9	10	0
verfügbares Lysin	17	12	17	38	22	15

* Die niedrigen Gehaltswerte gestatten keine eindeutigen Aussagen.

Einfluß auf den Gehalt an Aminosäuren in den Enzymhydrolysaten

In Tabelle 3 ist der Gehalt an essentiellen Aminosäuren in den Enzymhydrolysaten der nicht erhitzten und der erhitzten Gewebe dargestellt.

Bei Herz- und Skelettmuskulatur, Lunge, Euter und Ohren ist allgemein eine Tendenz zu tieferen Werten in den erhitzten Produkten festzustellen. Kein Einfluß ist bei Haut vorhanden. Am stärksten ist die Abnahme beim Eutergewebe.

3. Einfluß einer Erhitzung von nasser Lunge während 1 Stunde bei 100 ° C, 120 ° C, 140 ° C und 160 ° C

Einfluß auf den Gehalt an essentiellen Aminosäuren und verfügbarem Lysin

Der Gehalt an essentiellen Aminosäuren von gefriergetrockneter und naß erhitzter Lunge ist in Tabelle 4 dargestellt.

Tabelle 3

Gehalt an essentiellen Aminosäuren in Enzymhydrolysaten von gefriergetrockneten und erhitzten Geweben in g/16 g N

Gefriergetrocknete Gewebe: I
Naß erhitze Gewebe (120 ° C; 1 Stunde): II

Aminosäuren	Herz		Muskel		Lunge		Euter		Ohren		Haut	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Threonin	3,2	3,0	3,3	3,1	2,8	2,5	2,2	2,0	1,8	1,7	1,3	1,3
Methionin	1,2	1,0	1,5	1,3	1,0	0,8	0,9	0,7	0,6	0,5	0,4	0,5
Cystin	0,6	0,4	0,7	0,6	0,7	0,5	0,5	0,2	0,3	0,2	0,2	0,1
Valin	3,6	3,5	3,5	3,4	4,1	4,0	3,6	2,8	2,5	2,6	1,8	1,8
Isoleucin	3,1	2,7	3,4	2,9	2,4	2,0	2,6	2,0	1,5	1,3	1,2	1,2
Leucin	6,7	5,8	6,5	5,9	6,4	5,8	5,8	4,1	3,6	3,4	2,5	2,5
Phenylalanin	3,4	3,0	3,2	2,8	3,6	3,1	2,8	2,3	2,3	2,2	1,8	1,8
Lysin	6,5	5,5	7,5	6,4	5,6	4,8	4,4	3,0	3,4	2,8	2,9	2,8

Tabelle 4

Gehalt an Aminosäuren in gefriergetrockneter und während 1 Stunde naß erhitzter Lunge

	Nicht erhitzt	100 ° C	120 ° C	140 ° C	160 ° C
	g/16gN	g/16gN	g/16gN	g/16gN	g/16gN
Threonin	3,7	3,7	3,8	3,5	3,4
Methionin	2,0	1,8	1,8	1,5	1,4
Cystin	1,5	1,4	1,3	0,9	0,4
Valin	5,3	5,5	5,5	5,3	5,2
Isoleucin	3,0	2,9	3,0	2,9	2,8
Leucin	7,9	7,9	7,8	7,8	7,8
Phenylalanin	4,1	4,2	4,2	4,0	3,7
Lysin	6,4	6,2	5,9	5,3	4,3
Verfügbares Lysin	4,9	5,0	4,3	2,8	2,5
Tryptophan	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2

Threonin, Valin, Isoleucin, Leucin, Phenylalanin und Tryptophan erwiesen sich als relativ unempfindlich gegenüber der Erhitzung. Dagegen wurden Cystin, Methionin und Lysin zerstört. Bemerkenswert ist wiederum die eindeutig stärkere Abnahme des verfügbaren Lysins als des Gesamtlysins.

Einfluß auf den Gehalt an essentiellen Aminosäuren in den Enzymhydrolysaten

Der Einfluß der Erhitzung von nasser Lunge auf den Gehalt an essentiellen Aminosäuren in den Enzymhydrolysaten ist in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5

Gehalt an essentiellen Aminosäuren in Enzymhydrolysaten von gefriergetrockneter und während einer Stunde naß erhitzter Lunge

	Nicht erhitzt	100 ° C	120 ° C	140 ° C	160 ° C
	g/16gN	g/16gN	g/16gN	g/16gN	g/16gN
Threonin	2,8	2,7	2,5	2,1	2,0
Methionin	1,1	1,0	0,8	0,8	0,8
Cystin	0,8	0,8	0,6	0,3	0,2
Valin	4,1	4,1	4,0	3,3	3,3
Isoleucin	2,4	2,4	2,0	1,7	1,8
Leucin	6,4	6,3	5,8	5,1	4,7
Phenylalanin	3,6	3,5	3,1	2,5	2,6
Lysin	5,6	5,4	4,8	3,8	3,0

Bei allen Aminosäuren ist bei höheren Temperaturen eine Abnahme des Gehaltes im Enzymhydrolysat festzustellen. Sie liegt bei Threonin, Valin, Isoleucin, Leucin Phenylalanin, deren Gesamtgehalt durch die Erhitzung nicht wesentlich reduziert wurde, in der Größenordnung von 20—30 %.

Diskussion

Die Erhitzungsversuche haben gezeigt, daß die Aminosäuren Cystin, Lysin und Methionin relativ stark zerstört werden. Bei höheren Temperaturen wird die enzymatische Verfügbarkeit von allen Aminosäuren beeinträchtigt. Nach allen untersuchten Kriterien ist der Hitzeeinfluß bei Haut, einem relativ reinen Protein, am geringsten, bei Euter am stärksten. Es scheint, daß Reste von reduzierenden Zuckern aus der Milch im Eutergewebe zu einer starken Hitzeschädigung geführt haben.

Bei der Fleischmehlherstellung, vor allem mit neueren Verfahren, dürfte die Hitzebelastung geringer sein, als einer Erhitzung während 1 Stunde bei 120 ° C entspricht. Soweit mit den hier angewandten Methoden feststellbar ist, beträgt die Abnahme der Verfügbarkeit dabei weniger als 20 % des Gesamtgehaltes. Die Qualität von Fleisch- und Tierkörpermehlen, die nach modernen Verfahren her-

gestellt werden, wird daher ausschlaggebend durch die Art des verwendeten Rohmaterials und weniger durch die Fabrikation bestimmt.

Zusammenfassung

Bei einigen als Rohstoffe für die Fleischmehlherstellung verwendeten tierischen Geweben wurde der Einfluß einer unterschiedlichen Erhitzung auf das Gesamtaminosäuremuster, den Gehalt an verfügbarem Lysin (nach *Carpenter*) sowie den Gehalt an Aminosäuren in Enzymhydrolysaten untersucht.

Die einzelnen Gewebe unterscheiden sich stark im Gehalt an essentiellen Aminosäuren. Im Vergleich zum Bedarf des wachsenden Schweins enthalten Herz- und Skelettmuskulatur alle essentiellen Aminosäuren in reichlichen Mengen. Bei Euter und Lunge sind Methionin/Cystin und Isoleucin knapp genügend oder defizitär. Haut und Ohren weisen einen Mangel an praktisch allen essentiellen Aminosäuren auf.

Nach Erhitzung nimmt vor allem der Gehalt an Methionin, Cystin, Lysin und verfügbarem Lysin ab. Die Verluste bei den übrigen essentiellen Aminosäuren sind gering.

In den Enzymhydrolysaten ist schon bei 120 ° C eine Tendenz zur Abnahme des Gehaltes an allen essentiellen Aminosäuren festzustellen.

Résumé

Quelques tissus d'origine animale entrant dans la composition de la farine de viande ont été soumis à différents traitements thermiques. Nous avons étudié les répercussions de ces traitements sur les acides aminés présents et disponibles (lysine selon *Carpenter* et acides aminés enzymatiquement digestibles).

Les acides aminés essentiels sont représentés de façon fort différente dans les divers tissus. Relativement aux besoins du jeune porc, le muscle du coeur, la musculature du squelette sont riches en acides aminés essentiels; la mamelle et les poumons presque ou vraiment déficitaires en méthionine/cystine et en isoleucine. Quant à la peau et aux oreilles on constate que tous les acides aminés essentiels sont pratiquement en déficit.

Après traitement thermique, les pertes sont nettes pour la méthionine, la cystine, la lysine et la lysine selon *Carpenter*; elles sont minimales pour les autres acides aminés essentiels. On remarque déjà à 120 ° C une certaine diminution de tous les acides aminés essentiels dans l'hydrolysat enzymatique.

Literatur

Mauron J., Mottu F., Bujard E. und Egli R. H. (1955): Arch. Biochem. Biophys., **59**, 433.
NRC (1968): Nutrient Requirements of Swine, Nat. Acad. Sci.-Nat. Res. Council, Publ. 1599.

Otte K. C.: Untersuchungen zum Gehalt an verfügbarem Lysin in verschiedenen Futtermitteln. Diss., Ludwig-Maximilians-Universität, München.

Sur l'identification et le dosage d'agents gélifiants et épaississants dans les denrées alimentaires

1. Introduction

Les agents gélifiants et épaississants offrent un vaste champ d'applications à l'industrie des denrées alimentaires car, à part leurs propriétés gélifiantes ou épaississantes, la plupart présentent encore des propriétés émulsionnantes.

L'analyse de ces additifs se heurte à diverses difficultés car ce sont des polysaccharides de poids moléculaire élevé pour lesquels, à part l'amidon et les alginate, il n'existe pas de réaction spécifique d'identification directe. De plus, on ne les rencontre qu'en faible concentration dans les denrées alimentaires, généralement inférieure à 1 %. Pour leur identification, nous disposons notamment des méthodes suivantes:

- l'examen microscopique (1, 2, 3),
- les réactions de précipitation et de floculation (4, 5, 6, 7, 8),
- la chromatographie sur papier (9, 10, 11) ou sur couche mince (12, 13) des hydrolysats de ces polysaccharides,
- l'électrophorèse sur membrane d'acétate de cellulose (14).

Les trois premières méthodes ne donnent des résultats valables que lorsqu'on cherche à identifier des substances pures. Lorsque ces additifs sont contenus dans des denrées alimentaires, les autres constituants rendent leur recherche plus problématique. La dernière méthode, soit la micro-électrophorèse sur membrane d'acétate de cellulose, nous donne les meilleurs résultats à l'heure actuelle. De plus, avec l'appareillage dont nous disposons, elle permet d'effectuer simultanément l'examen de huit échantillons par membrane.

On utilise, selon *Padmoyo* et *Miserez* (14), le tampon acide borique-hydroxyde de sodium de pH 10 qui forme avec les polysaccharides des complexes chargés négativement et susceptibles de migrer. Les épaississants autorisés par l'Ordonnance sur les denrées alimentaires migrent de la cathode vers l'anode. Les quantités d'échantillons déposées sont de l'ordre de 10 µg. Rappelons que, l'électrophorèse terminée, trois méthodes de coloration permettent de révéler les différents polysaccharides qui nous intéressent:

- La méthode P.A.S. (Periodic Acid Schiff-Reaction), soit une oxydation par l'acide periodique suivie d'une coloration par la fuchsine ou réactif de Schiff, révèle les polysaccharides possédant deux groupes hydroxyles voisins.
- La coloration tannin — P.A.S., ou coloration P.A.S. précédée d'un traitement au tannin, permet de révéler quelques épaississants. Le tannin permet notamment de fixer plus solidement les épaississants sur la membrane.

— Le bleu de toluidine O révèle les polysaccharides possédant des groupes acides, carboxyliques ou sulfuriques.

Certains épaississants ne sont révélés que par une seule méthode, alors que d'autres le sont par deux, voir par les trois méthodes de coloration. Ceci facilite l'identification.

Les membranes peuvent être rendues transparentes (sauf dans le cas de la coloration au bleu de toluidine O), ce qui permet le dosage par densitométrie.

Dans la pratique, l'identification des agents gélifiants et épaississants par l'électrophorèse se heurte à plusieurs difficultés: certains échantillons se déposent mal sur l'acétate de cellulose, d'autres ne migrent pas, ou, comme l'agar-agar, ne se laissent que difficilement révéler. Pour un même épaississant, on observe des différences de comportement selon la provenance ou la fabrication de l'échantillon.

2. Quelques propriétés de divers échantillons de gomme adragante

L'observation de ces différences de comportement nous a incités à comparer quelques propriétés d'échantillons de gomme adragante de diverses provenances. Nous avons choisi d'étudier cet épaississant car nous en avons huit échantillons différents à disposition et parce que la gomme adragante se laisse facilement colorer sur membrane d'acétate de cellulose par la méthode P.A.S.

2.1 Solubilité dans l'eau

Les huit échantillons se présentent sous forme de poudres contenant en moyenne 11 % d'eau. Pour déterminer leur solubilité dans l'eau, nous avons préparé des suspensions à 1 % et chauffé au bain-marie pendant 30 minutes en agitant de temps en temps. Après avoir laissé reposer ces solutions pendant quelques heures, nous les avons centrifugées. Ces solutions sont difficiles à centrifuger et nous n'avons pratiquement jamais obtenu des centrifugats limpides avec cet épaississant. Nous avons prélevé une quantité connue de solution surnageante, précipité la gomme adragante par l'addition d'alcool, centrifugé, séché puis pesé le précipité.

Nous avons constaté (voir tableau 1) que, selon l'échantillon, 30 à 80 % de la gomme adragante reste en solution ou en suspension après la centrifugation. Pour un même échantillon, les résultats de plusieurs déterminations peuvent fortement varier. Ces écarts s'expliquent par la difficulté d'obtenir des suspensions homogènes puis de les centrifuger efficacement. Notons qu'une filtration par les moyens du laboratoire est impossible, les filtres se colmatant très rapidement. Malgré les écarts observés, ces valeurs nous seront utiles pour l'interprétation d'autres résultats.

2.2 Electrophorèse et densitométrie

Avant de procéder à l'électrophorèse des solutions obtenues ci-dessus, nous les avons diluées une fois avec le tampon acide borique-hydroxyde de sodium de pH

Tableau 1
Pourcentage de matière soluble des huit échantillons de gomme adragante
(essais effectués à double).

Echantillon	Fraction soluble	Echantillon	Fraction soluble
1a	45 %	5a	71 %
1b	44 %	5b	74 %
2a	81 %	6a	26 %
2b	74 %	6b	60 %
3a	12 %	7a	53 %
3b	12 %	7b	90 %
4a	60 %	8a	92 %
4b	64 %	8b	50 %

10 et de force ionique $\mu = 0,13$. Nous avons effectué l'électrophorèse de chaque solution et la révélation des phérogrammes dans des conditions identiques et selon la technique décrite par *Padmoyo* et *Miserez* (14).

Tableau 2 Distances de migration des huit échantillons de gomme adragante

Echantillon	Migration	Echantillon	Migration
1a	18,8 mm	5a	16,6 mm
1b	17,9 mm	5b	14,9 mm
2a	17,3 mm	6a	15,3 mm
2b	17,5 mm	6b	14,9 mm
3a	20,7 mm	7a	13,9 mm
3b	20,4 mm	7b	12,6 mm
4a	17,7 mm	8a	14,3 mm
4b	14,7 mm	8b	13,5 mm

Nous avons observé (voir figure 1 et tableau 2) des distances de migration variant entre 13 et 20 mm selon l'échantillon. Ceci laisse entrevoir certaines difficultés lors de l'identification des agents gélifiants et épaississants contenus dans les denrées alimentaires.

L'enregistreur du densitomètre étant couplé à un intégrateur, nous avons calculé ensuite pour chaque échantillon sa surface spécifique, soit le rapport «surface du pic* sur quantité d'épaississant déposée exprimée en μg ». Nous avons

* Valeur lue en unité sans dimension.

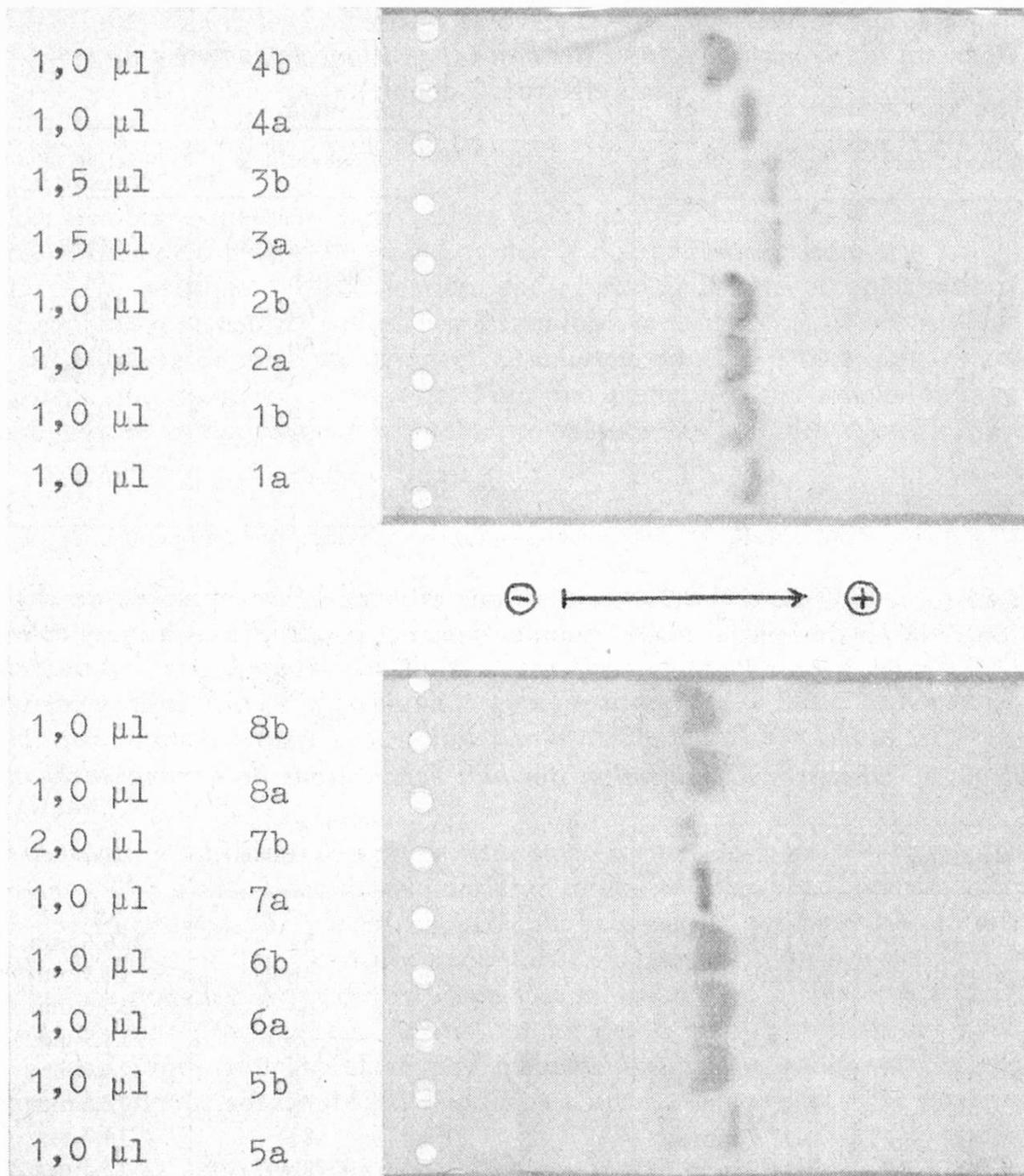


Figure 1 Phérogrammes des échantillons de gomme adragante

Conditions expérimentales :

- Courant d'électrophorèse: 5 mA (correspondant à une tension d'environ 200 Volt).
- Tampon acide borique-hydroxyde de sodium de pH 10 et de force ionique $\mu = 0,065$.
- Migration anodique.
- Quantités de solution de gomme adragante portées: voir figure.
- Durée: 20 minutes.
- Coloration P.A.S.

porté à double sur deux membranes des quantités connues de chaque échantillon et calculé les quantités correspondantes de gomme adragante en μ g. Nous avons obtenu pour les huit échantillons des valeurs différentes, s'écartant beaucoup de la

Tableau 3 Analyse densitométrique des huit échantillons de gomme adragante

Membrane 1:

Echantillon	Surface spécifique (μg^{-1})
1a	80
1b	104
2a	87
2b	87
3a	85
3b	78
4a	70
4b	133

Moyenne: 91 ± 20

Membrane 2:

Echantillon	Surface spécifique (μg^{-1})
5a	22
5b	114
6a	114
6b	72
7a	153
7b	81
8a	81
8b	85

Moyenne: 90 ± 38

valeur moyenne dans trois cas notamment (voir tableau 3, valeurs en caractères gras):

Par ailleurs, nous avons remarqué que lorsque les échantillons de gomme adragante sont précipités par l'alcool puis redissous dans la solution tampon, ils sont en moyenne moins intensivement colorés par la réaction P.A.S. que les échantillons dilués directement avec le tampon. Cela provient notamment de la difficulté de redissoudre les précipités.

Notons qu'il n'est pas toujours possible de comparer entre eux les résultats obtenus sur deux phérogrammes, car on ne peut assurer entièrement d'un phérogramme à l'autre ni une égale intensité de coloration des polysaccharides, ni une égale décoloration du reste de la membrane.

2.3 Réaction à l'anthrone

L'anthrone est un réactif assez spécifique des hydrates de carbone contenant des hexoses avec lesquels il donne une coloration allant du vert au bleu (15). Cette réaction permet de doser ces hydrates de carbone en mesurant, à 620 nm, l'extinction du colorant formé (16). Nous avons effectué la réaction à l'anthrone sur des solutions aqueuses de gomme adragante. Comme standard, nous avons utilisé une solution de glucose à 0,5 ‰ (17).

Nous avons obtenu pour les divers échantillons de gomme adragante (voir tableau 4) un coefficient d'extinction ϵ variant entre 35 et 48% de celui du glucose. Bien que cette réaction soit intéressante, elle ne paraît guère applicable dans le cas de denrées alimentaires contenant naturellement des hexoses, mais elle permet de doser la gomme adragante pure en solution.

Tableau 4 Sensibilité de la gomme adragante au réactif à l'anthrone
(Deux séries d'essais)

Echantillon	ϵ gomme adragante	
	ϵ glucose	
	1ère série	2ème série
glucose	1,000	1,000
gomme adragante 1	0,440	0,374
gomme adragante 2	0,451	0,358
gomme adragante 4	0,407	0,353
gomme adragante 5	0,482	0,370
gomme adragante 7	0,436	0,352
gomme adragante 8	0,425	0,366
gomme adragante 9	0,467	0,485

Moyenne des 2 séries: $0,41 \pm 0,05$

3. Spectroscopie infra-rouge des agents gélifiants et épaississants

Nous venons de constater que selon leur provenance, divers échantillons d'un même épaississant présentent des différences de comportement et que cela peut rendre l'identification au moyen de l'électrophorèse difficile. Pour cette raison, nous avons cherché à faciliter ou à confirmer l'interprétation des phérogrammes à l'aide d'une autre méthode.

Nous avons retenu la spectroscopie dans l'infra-rouge, méthode publiée par l'A.O.A.C. (18, 19). Remarquons d'emblée que cette méthode ne s'applique en principe qu'en présence d'un seul agent gélifiant ou épaississant, les mélanges donnant des résultats trop difficiles à interpréter.

On prépare une suspension aqueuse de l'épaississant et l'évapore sur une plaque de téflon posée sur un bain-marie bouillant. On obtient ainsi un film très mince de l'épaississant qui se détache facilement du téflon. Les auteurs (18) préconisent l'emploi d'une plaque de verre enduite d'un agent anti-mouillant. Nous avons trouvé le téflon plus pratique, car il ne perd pas ses propriétés anti-mouillantes avec l'usage.

Nous avons enregistré les spectres d'absorption dans l'infra-rouge de la plupart des agents gélifiants et épaississants autorisés par l'Ordonnance sur les denrées alimentaires (voir figure 2). Nous n'avons pas cherché à interpréter ces spectres et nous ne les utilisons que comme spectres de référence. Nous constatons qu'ils présentent de nombreuses similitudes. Il est pratiquement impossible de différencier les spectres du caroube et du guaran. Notons qu'il en est de même pour ceux des amidons et des dextrans. Mais, à ces exceptions près, chaque épaississant possède un spectre d'absorption caractéristique entre 625 et 1000 cm^{-1} notamment.

Jusqu'ici, nous n'avons pas relevé de différences significatives entre échantillons de diverses provenances du même épaississant, contrairement à ce que nous avons constaté dans le cas de l'électrophorèse.

4. Agents gélifiants et épaississants dans l'intérieur d'articles de confiserie au chocolat

4.1 Isolement

Pour l'isolement des agents gélifiants et épaississants contenus dans les denrées alimentaires, l'A.O.A.C. (20) nous propose quelques méthodes présentant des différences selon la nature de la denrée alimentaire ou de l'épaississant recherché. Le principe général de ces méthodes est le suivant:

- addition d'eau pour dissoudre les épaississants ou défaire les gels,
- élimination des matières grasses,
- précipitation des protéines par l'addition d'acide trichloracétique,
- purification des épaississants ainsi isolés par des précipitations répétées dans l'alcool.

Ensuite, les auteurs effectuent des réactions spécifiques des polysaccharides pour mettre en évidence la présence ou l'absence de matières épaississantes.

Nous avons examiné l'intérieur de quelques articles de confiserie au chocolat, soit 7 «têtes de nègre» et «bâtons au chocolat». Nous avons choisi ce genre de denrée alimentaire car nous supposons la présence d'agent épaississants comme stabilisateurs dans ces articles et parce que leur analyse ne semblait pas devoir présenter de grandes difficultés. Nous nous sommes basés sur la méthode de recherche des épaississants dans la mayonnaise décrite par l'A.O.A.C. (21) pour isoler les épaississants pouvant se trouver dans les échantillons.

Pour chaque échantillon, nous avons préparé trois extraits aqueux de degré de pureté différent, soit:

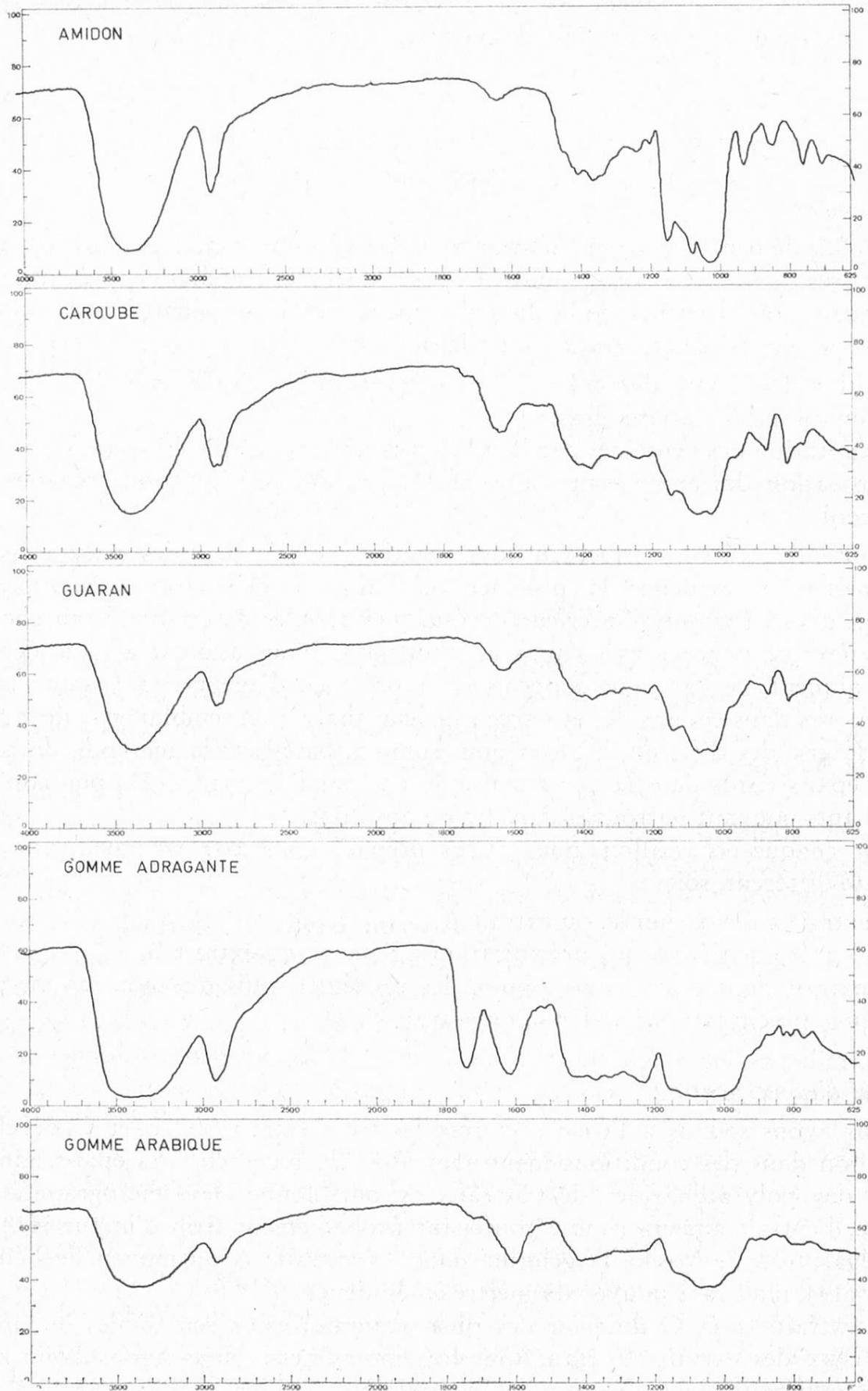
- un extrait aqueux simple, ou extrait A,
- un extrait purifié par une précipitation à l'alcool, ou extrait B,
- un extrait dont nous avons éliminé les protéines, puis que nous avons purifié par une précipitation à l'alcool, ou extrait C.

4.2 Essai d'identification

Nous avons soumis à l'électrophorèse les trois extraits A, B et C de chaque échantillon dans des conditions identiques. Pour la recherche des épaississants du groupe des polysaccharides, les extraits A ont donné des phérogrammes peu distincts, l'extrait aqueux simple contenant probablement trop d'impuretés. Nous avons également recherché la gélatine dans les extraits A au moyen de l'électrophorèse (14), mais sans pouvoir la mettre en évidence.

Les extraits B et C donnent des phérogrammes assez semblables les uns des autres, ceux des extraits C étant toutefois moins nets. Nous avons donc retenu les extraits B pour l'identification des épaississants.

Figure 2 Spectres d'absorption dans l'infra-rouge de films d'agents gélifiants et épaississants.



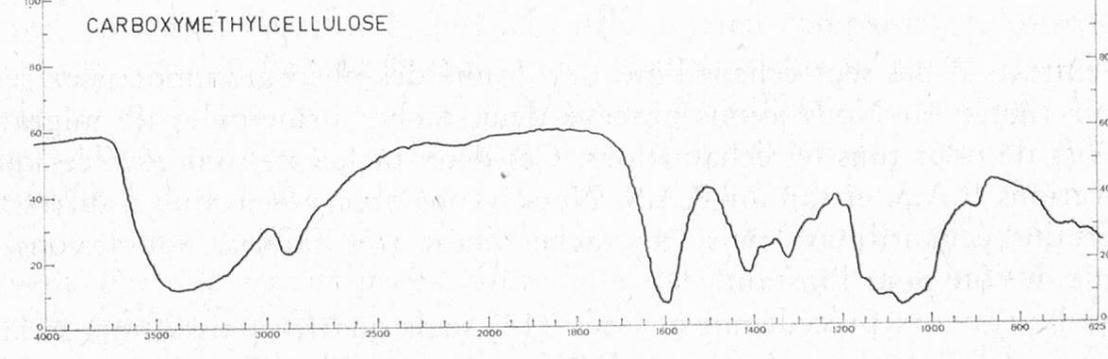
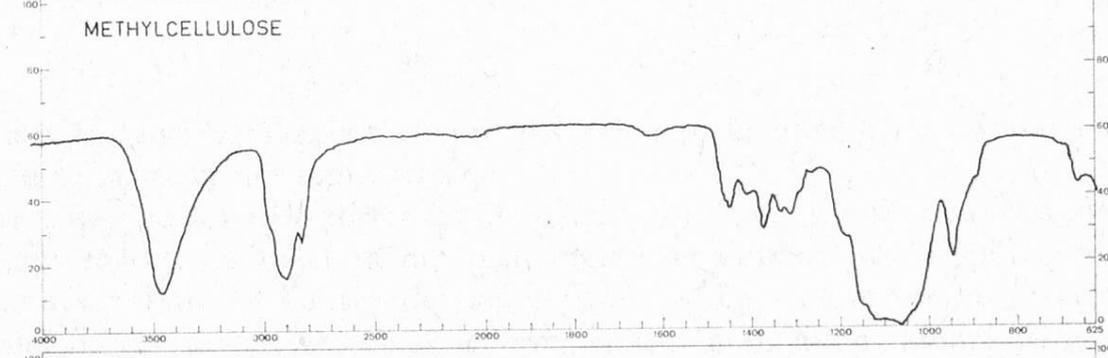
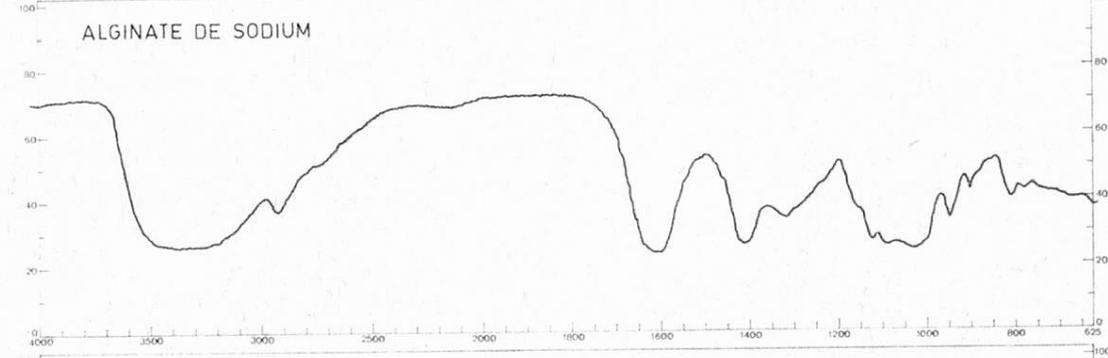
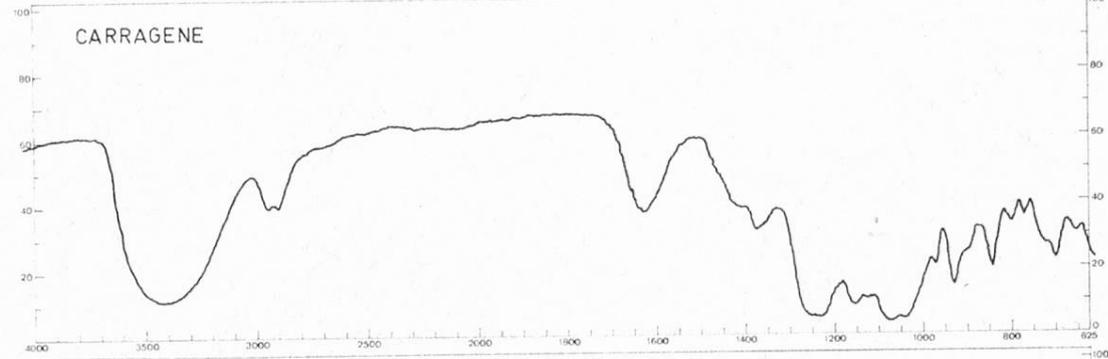
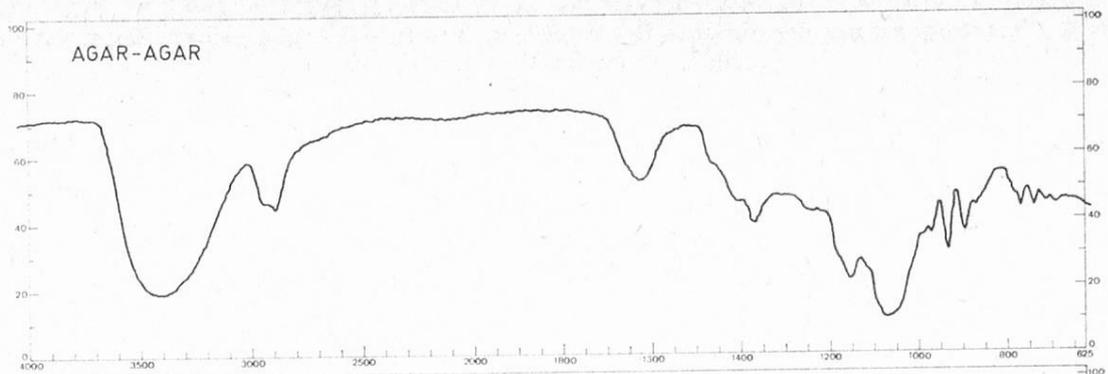
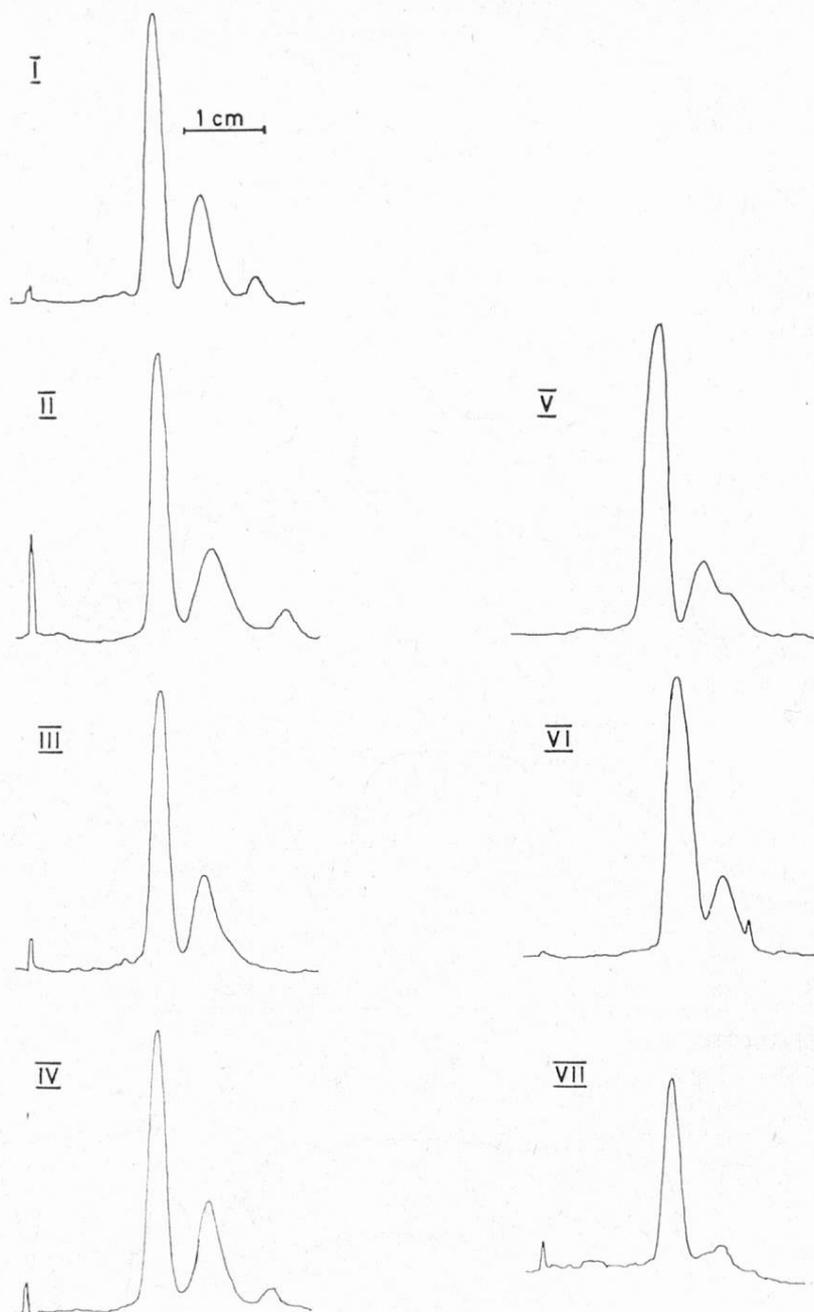


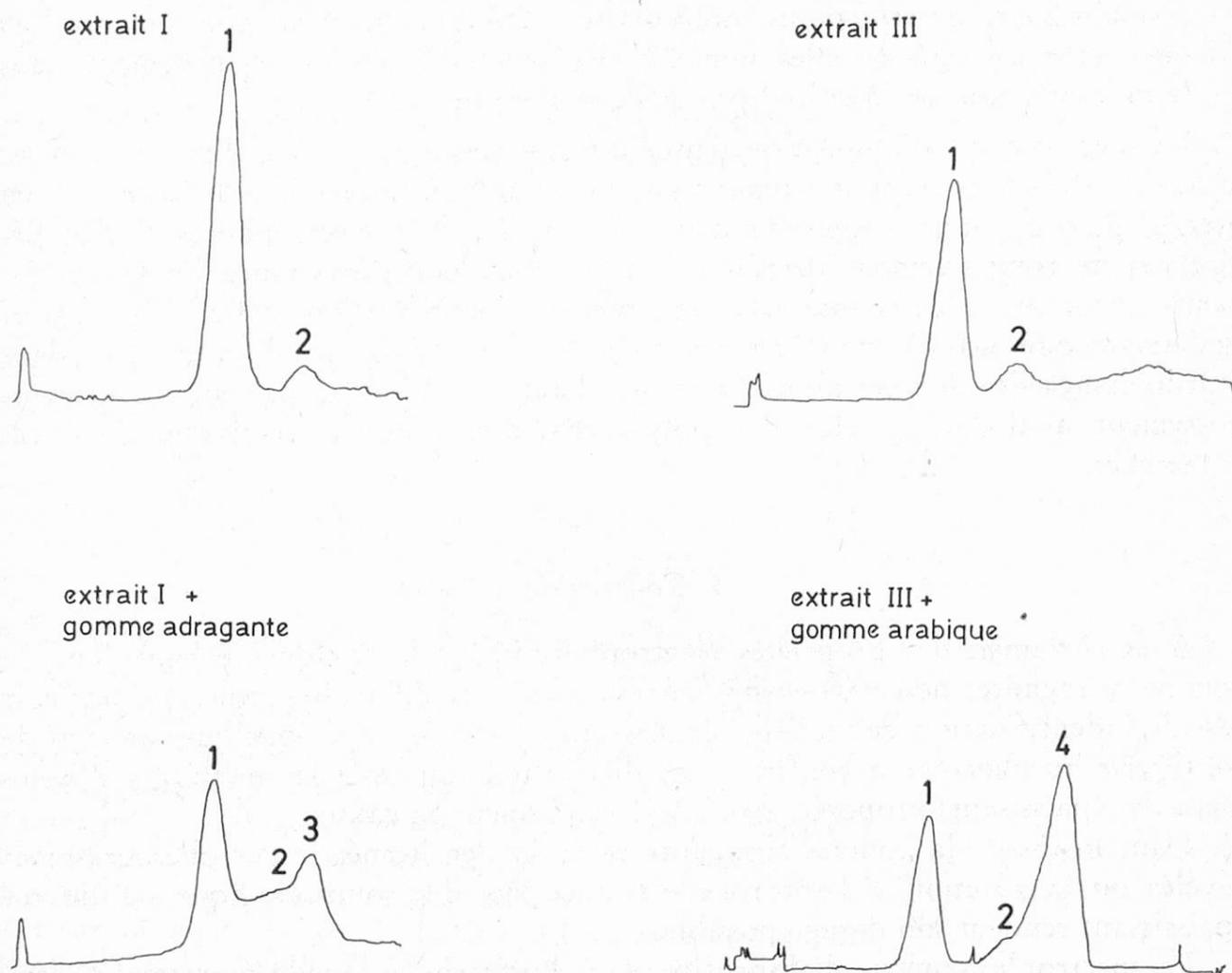
Figure 3 Densitogrammes des extraits B (coloration tannin - P.A.S.). Echantillons numérotés de I à VII.



Les extraits B des sept échantillons ont donné des phérogrammes assez semblables (voir figure 3). Nous avons observé deux taches principales de migration à peu près égale pour tous les échantillons. Ces deux taches ne sont révélées que par les colorations P.A.S. et tannin-P.A.S. Nous avons observé en plus d'autres taches pour certains échantillons, mais, ces taches étant très faibles, nous avons laissé leur étude de côté pour l'instant.

Selon les travaux précédemment cités (14) seuls quatre épaississants se laissent révéler à la fois par les colorations P.A.S. et tannin-P.A.S., soit le caroube, la gomme arabique, la gomme adragante et le carragène. Notons que ces deux der-

Figure 4 Essais d'identification des épaississants dans les extraits B par comparaison des distances de migration.



niers épaississants se laissent encore colorer par le bleu de toluidine 0 ce qui n'est pas le cas pour nos sept extraits.

Par comparaison des distances de migration, nous avons essayé d'identifier, mais sans succès, les deux taches principales en ajoutant les 4 épaississants susmentionnés à l'un ou l'autre de nos extraits B. La figure 4 nous montre deux exemples de ces tentatives. Dans le premier cas, nous avons ajouté de la gomme adragante (pic 3) à l'extrait B de l'échantillon I; en comparant le phérogramme obtenu avec celui de l'extrait B seul, nous constatons que la gomme adragante ne coïncide pas du tout au pic 1 et guère mieux au pic 2. Dans le second cas, l'addition de gomme arabique (pic 4) à l'extrait B de l'échantillon III montre immédiatement que nous ne sommes pas en présence de cet épaississant.

Nous n'avons donc pas pu identifier ces deux substances qui, par leur comportement, ont une grande probabilité d'être des matières épaississantes de nature polysaccharidique. En effet:

- elles sont solubles dans l'eau et insolubles dans l'alcool à 80 vol. %,
- elles ne sont pas précipitées par l'acide trichloracétique,

- elles donnent une réaction positive au réactif de Schiff, donc elles possèdent soit des groupes hydroxyles voisins, soit des groupes aldéhydiques,
- ces substances ont un poids moléculaire suffisamment élevé pour migrer lors de l'électrophorèse et elles donnent des espèces chargées négativement dans le tampon acide borique-hydroxyde de sodium de pH 10.

La spectroscopie d'absorption dans l'infrarouge ne nous a été d'aucun secours, les spectres obtenus étant très mauvais et impossibles à interpréter. Nous avons vu précédemment que nous pouvons nous attendre lors de l'électrophorèse à des différences de comportement des épaississants selon leur provenance ou les traitements qu'ils ont subis et que cela peut rendre l'identification difficile. Il se peut également que nous soyons en présence d'épaississants ne figurant pas dans l'Ordonnance des denrées alimentaires ou d'autres substances présentant un comportement analogue à celui des polysaccharides. Nous poursuivons donc ces recherches.

5. Conclusion

Avec l'examen des propriétés électrophorétiques de quelques échantillons de gomme adragante, nous avons mis en évidence des difficultés pouvant survenir lors de l'identification de matières épaississantes. L'examen de quelques articles de confiserie au chocolat a confirmé ces difficultés, sans que les méthodes d'isolement des épaississants proposées par l'A.O.A.C. soient en cause.

Dans le cas de la gomme adragante pure, la densitométrie des phérogrammes révélés ou la réaction à l'anthrone effectuée sur des solutions aqueuses de cet épaississant rendent son dosage possible.

La spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge semble permettre l'identification de certains agents gélifiants et épaississants, pour autant que l'on ne soit pas en présence de mélanges et que le degré de pureté de l'épaississant soit suffisant.

Résumé

L'identification des agents gélifiants et épaississants du groupe des polysaccharides est rendue difficile par des différences de comportement d'échantillons du même épaississant de diverses provenances. Divers échantillons de gomme adragante, examinés par électrophorèse sur membrane d'acétate de cellulose, présentent des vitesses de migration différentes. L'analyse densitométrique des phérogrammes ou la réaction à l'anthrone effectuée sur des solutions aqueuses de gomme adragante permettent de doser cet épaississant.

La recherche d'agents gélifiants et épaississants au moyen de l'électrophorèse dans quelques articles de confiserie au chocolat a mis en évidence deux constituants non identifiés présentant un comportement analogue à celui des agents épaississants.

Les agents gélifiants et épaississants donnent des spectres d'absorption caractéristiques dans l'infrarouge qui permettent de les distinguer à l'état pur, à l'exception des galactomannanes (caroube, guaran) d'une part, et des amidons et dextrines d'autre part.

Zusammenfassung

Die Identifikation der Gelier- und Verdickungsmittel aus der Gruppe der Polysaccharide ist wegen des verschiedenen Verhaltens ein und desselben Verdickungsmittels, je nach Fabrikat, schwierig. Verschiedene Muster Tragant wandern bei der Elektrophorese auf Celluloseacetatfolien ungleich schnell. Die densitometrische Analyse der entwickelten Pherogramme oder die Anthronreaktion in wäßrigen Lösungen von Tragant erlauben, dieses Verdickungsmittel quantitativ zu bestimmen.

Der Nachweis der Gelier- und Verdickungsmittel in einigen Schokolade-Konfiserie-waren mit Hilfe der Elektrophorese hat das Vorhandensein von zwei noch nicht identifizierten Bestandteilen mit verdickungsmittelähnlichem Verhalten gezeigt.

Die Gelier- und Verdickungsmittel geben charakteristische Absorptionsspektren im Infrarot, die eine Unterscheidung erlauben, mit Ausnahme der Galaktomannane (Carubin, Guaran) und der Stärke und Dextrine.

Bibliographie

1. *Beythien A., Diemair W.*: Laboratoriumsbuch für den Lebensmittelchemiker, 8. Auflage, Theodor Steinkopff, Dresden und Leipzig (1963). p. 616.
2. *Czaja A. Th.*: Z. Lebensm. Untersuch. u. Forsch. **117** 499 (1962).
3. *Czaja A. Th.*: Methoden der Lebensmittel-Mikroskopie und Lebensmittel-Ueberwachung, Umschau Verlag, Frankfurt a. Main, 1971, p. 72.
4. *Letzig E.*: Z. Lebensm. Untersuch. u. Forsch. **68** 301 (1934).
5. *Letzig E.*: Deutsche Lebensm. Rundschau **51** 41 (1955).
6. *Wyler O.*: Ces Travaux **41** 46 (1950).
7. *Ewart M. H., Chapman R. A.*: Anal. Chem. **24** 1460 (1952).
8. *Morley R. G., Phillips G. O., Power D. M. et Morgan R. E.*: Analyst **97** 315 (1972).
9. *Becker E., Eder M.*: Z. Lebensm. Untersuch. u. Forsch. **104** 187 (1956).
10. *Sulser H.*: Ces Travaux **48** 19 (1957).
11. *Stoll S. et Prat Y.*: Annales des Falsifications **641** 159 (1962).
12. *Grau R. et Schweiger A.*: Z. Lebensm. Untersuch. u. Forsch. **119** 210 (1963).
13. *Günther H. et Schweiger A.*: J. of Chromatogr. **34** 498 (1968).
14. *Padmoyo M. et Miserez A.*: Ces Travaux **58** 31 (1967).
15. Manuel suisse des Denrées Alimentaires, 5e édition, Centrale des imprimés et du matériel, Berne, 1965; 1er vol., p. 555.
16. Manuel suisse des Denrées Alimentaires, 5e édition, Centrale des imprimés et du matériel, Berne, 1969, 1er vol., p. 580.
17. *Straßer R. J.*: Travail non publié.
18. *McNulty J. A.*: J. of AOAC **43** 624 (1960).
19. Official Methods of Analysis of the AOAC, 11th ed., 1970, méthode 16.230—237.
20. Official Methods of Analysis of the AOAC, 11th ed., 1970, méthodes 13.057—058, 16.211—214, 16.231—237, 24.024—026, 30.051, 30.052—054, 03.055—056.
21. Official Methods of Analysis of the AOAC, 11th ed., 1970, méthode 30.051.