

Zur Anwendung der chromatographischen
Adsorptionsanalyse in der Lebensmittelchemie

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt

von

Karl Ernst S c h u l t e

aus

Bautenheide, Gem.Deilinghofen
(Westfalen)

Berichterstatter: Professor Dr. B. B l e y e r
Tag der mündlichen Prüfung: 11. V. 1939

ISBN 978-3-662-27945-8

ISBN 978-3-662-29453-6 (eBook)

DOI 10.1007/978-3-662-29453-6

Über den chromatographischen Nachweis der künstlichen Färbung der Lebensmittel. I.

Von

H. Thaler und K. E. Schulte.

Mitteilung aus dem Universitätsinstitut und der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie in München.

(Eingegangen am 14. Oktober 1939.)

Das Verfahren der Trennung von Stoffen durch selektive Adsorption, oder wie es jetzt gewöhnlich genannt wird, durch die chromatographische Adsorptionsanalyse, hat sich in den letzten Jahren auf den verschiedensten Gebieten der organischen, wie auch der anorganischen Chemie hervorragend bewährt. Die allgemeine Anwendbarkeit stellt es auf die gleiche Stufe wie die bekannten Operationen des Krystallisierens und des Destillierens. Seine Verwendbarkeit ist aber nicht allein auf Fragen der reinen wissenschaftlichen Forschung beschränkt, auch technische und warenkundliche Untersuchungen und Prüfungen sind mit gleichem Erfolg durchgeführt worden¹. Es mag deshalb wohl etwas verwunderlich erscheinen, daß die Lebensmittelchemie, deren Aufgabe in vielen Fällen die Abtrennung einer geringen Menge eines Stoffes aus einem Gemisch vieler Substanzen ist, sich bisher noch kaum dieses neuen Verfahrens bedient hat. Als erste haben H. Mohler und W. Hämmerle² versucht, die künstliche Färbung von Wein sowie den Verschnitt von Weißwein mit Rotwein auf diese Weise festzustellen. H. Thaler³ zeigte, wie die Färbung von Fetten, Ölen und Butter mit Teer- und anderen Farbstoffen chromatographisch leicht nachzuweisen ist und H. A. Boekenoogen⁴ untersuchte das Verhalten naturfarbiger Öle. Es ist also vor allem die künstliche Färbung von Lebensmitteln, deren Nachweis mittels der Chromatographie lohnend und aussichtsreich erschien, um so mehr, als gerade die Ermittlung der verwendeten Farbstoffe durch die bisher üblichen Methoden in vielen Fällen unsicher und wenig befriedigend war.

Es stand von vornherein fest, daß die Möglichkeiten der Verwendbarkeit der Adsorptionsanalyse mit den angeführten Fällen keineswegs erschöpft waren. Um weiteres Material beizubringen, sollte deshalb versucht werden, den Nachweis der künstlichen Färbung auch bei anderen Lebensmitteln auf chromatographischem Wege zu erbringen.

Bei diesen Versuchen war eine möglichst scharfe Trennung der Farbstoff-Gruppen, der natürlichen und der künstlichen anzustreben, was sich bei den chemischen Verschiedenheiten, die zwischen ihnen bestehen, ohne allzugroße Schwierigkeiten erreichen ließ. Am zweckmäßigsten erschien es, wenn nur eine der beiden Farbstoff-Gruppen vom Adsorptionsmittel festgehalten wurde. In diesem Falle wiederum war es erwünscht, wenn die vollständige Adsorption des künstlichen Farbstoffes gelang, während die praktisch immer vorhandenen natürlichen Farbstoffe die Säule durchliefen. Durch geeignete Wahl des Lösungsmittels war dies immer zu verwirklichen.

¹ Vgl. L. Zechmeister u. L. v. Cholnoky, Die chromatographische Adsorptionsanalyse. Wien: Julius Springer 1938. ² Diese Z. 70, 193; 71, 186 (1936).

³ Fette u. Seif. 44, 38 (1937) — diese Z. 75, 130 (1938).

⁴ Rec. Trav. chim. Pays-Bas 56, 351 (1937).

Aus der großen Menge der zur Untersuchung geeigneten Nahrungsmittel konnten nur einige wenige, möglichst verschiedenartige ausgesucht werden. Eine Anfrage aus der Praxis wies auf die Prüfung von Lachs- und Seelachs-Konserven hin. Ferner wurde versucht, das chromatographische Verhalten der Farbstoffe der Hühner- und der Enteneier sowie der gelben Teerfarbstoffe in Teigwaren zu ermitteln. Als dritter Gegenstand der Untersuchung wurde Tomatenmark gewählt, das in der Lebensmittel-Industrie wie im Haushalt eine wichtige Rolle spielt. Hier sollte nicht nur der Nachweis der künstlichen Färbung geführt werden. Tomatenmark wird zur Zeit zur Geschmacksverbesserung wie auch zur Erzielung einer schönen Farbe vielen Lebensmitteln zugesetzt. Es erschien deshalb im Interesse, auch den Nachweis von reinem Tomatenmark in Zubereitungen zu versuchen. Über das Ergebnis aller dieser Untersuchungen soll im folgenden berichtet werden.

1. Die Arbeitsweise.

Für die Untersuchung wurde die gleiche Versuchsanordnung gewählt, die sich schon früher bei dem Nachweis der künstlichen Färbung der Butter¹ bewährt hatte.

Als Adsorptionsmittel diente Aluminiumoxyd, gelegentlich erwies sich auch Clarit als brauchbar. Es wurde jedoch nicht mehr das „Aluminiumoxyd standardisiert nach H. Brockmann“ sondern ein selbst hergestelltes Präparat benutzt. Hierzu wurde technisch reines Aluminiumhydroxyd (Aluminium oxydatum hydricum techn., E. Merck, Darmstadt) in einer flachen Schale im Muffelofen auf 400° oder auch mittels eines starken Gasbrenners solange erhitzt, bis kein Wasserdampf mehr entwich.

Das schon einmal verwendete Oxyd konnte man wiedergewinnen, indem man zunächst die vorhandenen Lösungsmittel durch schwaches Erwärmen austrieb oder besser abbrannte und den Rückstand im Muffelofen bei 600° glühte. Dieses wiedergewonnene Aluminiumoxyd zeigte eine große Adsorptionskraft. Es wurde offenbar durch die zurückbleibende Asche der verbrannten organischen Substanz aktiviert.

Im allgemeinen wurde auf eine 20 × 1 cm große Aluminiumoxydsäule chromatographiert, während man vom Clarit weit kleinere, etwa 5 × 1 cm große Säulen verwenden mußte.

Die Chromatogramme beurteilte man möglichst bei Tageslicht. Daneben hat sich auch die Prüfung der Adsorptionszonen im ultravioletten Licht der Hanauer Analysen-Quarzlampe in einer Reihe von Fällen hervorragend bewährt.

2. Der Nachweis der künstlichen Färbung von Lachs und Lachsersatz.

Unter Lachs als Handelsware versteht man das Muskelfleisch des Fisches *Salmo salar* L., das sowohl frisch (*Salm*) wie auch geräuchert in den Handel kommt. Im letzteren Falle wird der gesalzene Fisch einer längere Zeit währenden Kalträucherung unterzogen, wobei sich die an und für sich rötliche Färbung des Fleisches zu jenem bekannten roten Farbton, dem Lachsrot, vertieft. Das Erzeugnis wird entweder in größeren Stücken oder auch geschnitten verwendet. Unter dem Namen „Räucherlachs in Scheiben“ wird eine mäßig haltbare Halbkonzerve hergestellt, bei der man die Ware zur Verhütung des Aneinanderhaftens der Scheiben mit geringen Mengen von Speiseöl bestreicht.

Auch die Lachseier, annähernd kugelförmige Gebilde von etwa 4—5 mm Durchmesser und prachtvoll hellroter Farbe sind im Handel, und zwar als Lachs- oder roter Kaviar.

Der Träger des roten Farbstoffes, sowohl des Muskelfleisches wie auch der Eier des Fisches, ist die Salmensäure, eine Polyencarbonsäure, die von A. Emmerie, M. van

¹ H. Thaler, diese Z. 75, 130 (1938).

Ekeelen, B. Josephy und K. L. Wolff¹ mit Hilfe der chromatographischen Adsorptionsmethode isoliert und in ihrer Konstitution aufgeklärt worden ist.

Je nach dem Ort, an dem der Lachs gefangen wurde, nach Alter und Geschlecht der Tiere und nach der Art der Verarbeitung und Lagerung der Ware, ist die Farbe der daraus hergestellten Erzeugnisse nicht selten sehr verschieden, wobei diese manchmal auch ein wenig ansehnliches Aussehen haben können. Um diese Mängel auszugleichen, wird der echte Lachs gelegentlich künstlich nachgefärbt.

Dem Bestreben der Fischindustrie, dem Verbraucher möglichst billige und hochwertige Fischkonserven zu bieten und die in großen Mengen ankommenden und frisch oft schwer absetzbaren Magerfische in einer ansehnlichen Form auf den Markt zu bringen, verdankt ein früher nicht bekanntes Erzeugnis seine Entstehung, nämlich der sog. „Seelachs“. Als Rohstoff gelangen Magerfische wie der Pollack (*Gadus pollachius*) und der Köhler oder Blaufisch (*Gadus virens*) zur Verwendung. Das annähernd weiße Fleisch dieser Fische wird nach entsprechender Vorbehandlung lachsrot gefärbt und durch Einlegen in Speiseöl mit Fett angereichert. Als Farbstoffe kommen wasserlösliche, auf Eiweiß aufziehende Teerfarbstoffe in Betracht. Die Nachahmung gelingt in so vollendeter Weise, daß ein gut gelungenes Erzeugnis in Geschmack und Aussehen nur mit Schwierigkeiten vom echten Lachs zu unterscheiden ist. Auf der anderen Seite ist aber die Feststellung der Art der Ware wichtig, um den Verbraucher vor einer wirtschaftlichen Schädigung zu bewahren, da der echte Lachs einen wesentlich höheren Verkaufswert hat. Hier kann allein die Untersuchung des Farbstoffes Klarheit schaffen.

Der natürliche Farbstoff des echten Lachses, die zum Teil in veresterter Form vorliegende, zu den Polyenen gehörende Salmensäure, hat die Eigentümlichkeit, in das beim „Räucherlachs in Scheiben“ zugesetzte Öl überzugehen und es rötlich gelb zu färben. Die zum Nachfärben des Lachses bzw. des Ersatzes verwendeten Teerfarbstoffe sind zum Unterschied davon nicht fettlöslich. Es wäre jedoch ohne weiteres möglich, durch Zugabe geringer Mengen eines Fettfarbstoffes auch das Öl anzufärben und so dem Ersatz auch in dieser Hinsicht vollkommen das Aussehen der echten Ware zu geben.

Zum Nachweis der künstlichen Färbung bediente man sich bisher der üblichen Wollfadenmethode, die jedoch nicht selten wenig befriedigende Ergebnisse lieferte, vor allem dann, wenn es sich darum handelte, festzustellen, ob echter Lachs einer Nachfärbung unterzogen worden war. Es erschien deshalb aussichtsreich, die chromatographische Adsorptionsanalyse auf diese Fälle anzuwenden.

Als Untersuchungsmaterial wurden verschiedene Proben von echtem Lachs und echter Lachskonserven sowie von Seelachs und Seelachskonserven aus Münchener Feinkosthandlungen verwendet.

Als Adsorptionsmittel wurden Aluminiumoxyd und Clarit benutzt. Zur Lösung der Farbstoffe dienten Petroläther, Benzol, Aceton und Pyridin. Letzteres fand bisher zwar weniger für chromatographische Zwecke Verwendung, erwies sich aber in dem vorliegenden Falle als sehr brauchbar.

Das Arbeitsverfahren gestaltete sich sehr einfach: Jeweils 3 g des mittels eines Fleischwolfes gut zerkleinerten Untersuchungsmaterials extrahierte man mit 30 ccm des betreffenden Lösungsmittels 2 Stunden lang bei etwa 30°. Die Lösung wurde filtriert, auf Aluminiumoxyd oder Clarit gegeben und das nach dem langsamen Durchlaufen erhaltene Chromatogramm mit nochmals 30 ccm des gleichen Lösungsmittels nachgewaschen.

Petroläther vom Siedepunkt 70° löste bei Zimmertemperatur sowohl den echten wie auch die künstlichen Lachsfarbstoffe, wobei die Lösungen aber in jedem Falle nur

¹ Acta Brevia neerl. Physiol. etc. 4, 139 (1934).

gelblichrot gefärbt waren. Auf Aluminiumoxyd ergab die Lösung des echten Farbstoffes ein scharfes Chromatogramm. Die Oberfläche und 1 mm des oberen Teiles der Säule waren dunkelrot gefärbt. Dieser rote Ring leuchtete im UV-Licht violettrot auf. Darunter befand sich ein 3 mm breiter, leuchtend gelber Streifen und am unteren Ende der Säule zeigte sich noch eine leuchtend gelbe, etwa 1 mm breite Zone.

Der Petroläther-Auszug aus Lachsersatz ergab auf Aluminiumoxyd nur ein ganz schwaches Chromatogramm, da der größte Teil des Farbstoffes durch die Säule lief. Die Oberfläche erschien zartrosa gefärbt, darunter lag ein zartgelber Ring. Im UV-Licht leuchteten zwei gelbe Ringe auf.

Benzol löste nur den Farbstoff des echten Lachses, der vom Aluminiumoxyd als scharfer roter Ring festgehalten wurde.

Aceton nahm aus dem vorher mit Petroläther entfetteten Material sowohl den Farbstoff des echten Lachses, als auch denjenigen des Ersatzes auf. Die Lösung des ersteren ergab auf Aluminiumoxyd kein Chromatogramm, der künstliche Farbstoff jedoch färbte die Oberfläche und eine etwa 1 mm breite Zone leuchtend rot.

Pyridin extrahierte ebenfalls den Farbstoff des echten Lachses wie den von Lachsersatz. Beide Lösungen waren schön rot gefärbt und kaum voneinander zu unterscheiden. Vom Aluminiumoxyd wurde der echte Farbstoff nicht festgehalten und ließ sich vollständig in die Vorlage waschen. Der Teerfarbstoff hingegen lieferte ein sehr bezeichnendes Chromatogramm: Die Oberfläche der Säule und eine 1 mm breite Zone erschienen leuchtend rot. Dieser Ring kann unter Umständen auch bis zu 10 mm breit werden, sich vom oberen Ende der Säule ablösen und weiter nach unten wandern, da manche Begleitstoffe, die vom Pyridin aufgenommen werden, vor allem das Öl und die in ihm enthaltene freie Säure das Chromatogramm beeinflussen. Auch wirkt sich natürlich die Natur des Teerfarbstoffes selbst etwas aus. Grundsätzliche Unterschiede konnten jedoch auch bei Proben verschiedener Herkunft nicht beobachtet werden. Im Lichte der Quecksilberdampfampe leuchtete der künstliche Farbstoff braunrot auf. Die Ergebnisse finden sich in der Tab. 1 zusammengestellt.

Tabelle 1. Chromatographisches Verhalten des echten und des künstlichen Lachsfarbstoffes in verschiedenen Lösungsmitteln auf Aluminiumoxyd.

Lösungsmittel	Lachs-Konserve	Öl der Lachs-Konserve	Seelachs-Konserve
Aceton	Rotgelbe Lösung, läuft durch	—	Rotgelbe Lösung, Oberfläche und 1 mm des oberen Randes der Säule rot.
Pyridin	Rote Lösung, Farbstoff läuft durch	Verwaschene Zonen, die durchwaschbar sind.	Rote Lösung, Oberfläche u. 1 mm des oberen Randes der Säule leuchtend rot.
Benzol	Schwach rote Lösung, 3 mm unter der Oberfläche 2 mm breiter roter Ring.	Rötlichgelbe Lösung, 7 hell orange, 10 tief orange, 5 gelb, 2 orange, 1 orange.	Farbstoff geht nicht in Lösung.
Petroläther (70°)	Gelbe Lösung, Oberfläche und 1 mm der Säule dunkelrot.	Rosa Lösung, Oberfläche u. 2 mm rosa Ring am oberen Rande der Säule.	Ganz schwach gelbe Lösung. Oberfläche sehr zart rosa, darunter 2 blaßgelbe Ringe.

Bei Verwendung von Clarit als Adsorptionsmittel wurde die Salmensäure in keinem Falle festgehalten, während der Teerfarbstoff ein scharfes Chromatogramm lieferte. Die Oberfläche und 3 mm des oberen Randes der Säule waren leuchtend rot gefärbt.

Das der echten Konserve zugesetzte und durch die natürlichen Farbstoffe gefärbte Öl verhielt sich wie das Muskelfleisch und ergab die entsprechenden Chromatogramme. Die einzelnen Zonen waren jedoch manchmal etwas auseinandergezogen und nicht so stark gefärbt, was auf den Einfluß des Fettes zurückzuführen ist. Über den Nachweis von künstlichen Fettfarbstoffen ist bereits früher berichtet worden¹.

Aus den Versuchen ist zu entnehmen, daß sich Aceton und daneben auch Pyridin als die brauchbarsten Lösungsmittel zum Nachweis der künstlichen Färbung von Lachs und Lachsersatz erwiesen haben. Allein die Teerfarbstoffe werden aus diesen Lösungen vom Aluminiumoxyd adsorbiert, während die Salmensäure und ihre Begleiter nicht zurückgehalten werden.

Vor der bisher üblichen „Wollfadenmethode“ hat der chromatographische Nachweis den Vorteil der leichteren und rascheren Durchführbarkeit, sowie den Verbrauch geringerer Mengen von Material voraus. Letzteres ist besonders dann von Bedeutung, wenn es sich um die Prüfung des Öls einer Konserve handelt. Während bei der Wollfadenmethode mindestens 5–10 g Substanz benötigt werden, läßt sich auf chromatographischem Wege noch aus 0,5 g Material ein gut zu beurteilendes Chromatogramm erhalten. Schließlich dürfte der chromatographische Nachweis dem bisher geübten auch in der Sicherheit der Ergebnisse überlegen sein.

3. Der Nachweis der künstlichen Färbung von Teigwaren.

Die schöne gelbe Farbe der Eierteigwaren soll von dem zur Herstellung verwendeten Eigelb herrühren. Dabei ist zwar die Menge desselben nicht ohne Einfluß auf die Farbe des Fertigerzeugnisses, es ist jedoch nicht möglich, aus der Intensität der Färbung auf die Menge der Eier zu schließen, da die Farbe des Eigelbes je nach Herkunft und Fütterung stark schwankt. Um einen hohen Eighalt vorzutäuschen, werden die Teigwaren gerne gefärbt, auch ist es üblich, die ohne Eizusatz hergestellten Wasserteigwaren mittels eines Teerfarbstoffes gelb zu färben.

Die Farbe der Erzeugnisse wird ferner durch den derzeit vorgeschriebenen Zusatz von Maisgrieß zum Mehl beeinflußt. Damit verliert zugleich der qualitative Nachweis des wichtigsten Dotterfarbstoffes, des Luteins nach Weyl erheblich an Wert, da das im Mais enthaltene Zeaxanthin und Kryptoxanthin sich gleich diesem in Äther lösen und auch von salpetriger Säure zerstört werden. Es ist daher erforderlich, den Farbstoff der Teigwaren auf jeden Fall zu untersuchen und nach Möglichkeit zu charakterisieren, wie es etwa das Schweizerische Lebensmittelbuch² fordert.

Die Prüfung auf die Verwendung künstlicher Farbstoffe wird zur Zeit mittels der bekannten Wollfadenprobe vorgenommen, wobei man den Farbstoff auf ungebeizte und gebeizte Wolle, gegebenenfalls auch auf Baumwolle aufziehen läßt und sein färberisches Verhalten beobachtet. Es wurde nun versucht, diese Untersuchung auch mittels der chromatographischen Adsorptionsanalyse durchzuführen, die sich nicht nur als brauchbar, sondern auch als einfacher und schneller zum Ziele führend erwies.

a) Das Verhalten der Eierfarbstoffe sowie einiger künstlicher Farbstoffe.

Als erstes war es notwendig, das chromatographische Verhalten der Farbstoffe des Eies gegenüber den gebräuchlichen Adsorptionsmitteln Aluminiumoxyd und Clarit

¹ H. Thaler, Fette u. Seif. 44, 48 (1937) — diese Z. 75, 130 (1938).

² Schweizerisches Lebensmittelbuch. 4. Aufl. Bern: Zimmermann u. Cie. 1937.

festzustellen. Da bei der Herstellung von Teigwaren nicht allein Hühnereier, sondern auch solche von Enten und Gänsen verwendet werden und da diese in der Regel ganz bedeutend stärker und auch viel rötlicher gefärbt sind, so wurde auch Enteneigelb geprüft.

Zur Gewinnung der Lösungen wurde jeweils 1 g Trockeneigelb mit 20 ccm des Lösungsmittels schwach erwärmt. Als solches diente 70proz. Aceton, 70proz. Alkohol und Pyridin. Nach etwa 30 Minuten dauernder Extraktion filtrierte man die Flüssigkeit und gab das Filtrat auf die Aluminiumoxyd- bzw. Claritsäule. Die Ergebnisse sind in der Tab. 2 zusammengestellt.

Tabelle 2. Chromatographisches Verhalten der Eidotterfarbstoffe und einiger zum Färben von Teigwaren verwendeter künstlicher Farben auf Aluminiumoxyd.

Farbstoff	70%iger Alkohol	70%iges Aceton	Pyridin
Hühnereigelb	Gelbliche Lösung, Oberfläche und 1 mm des oberen Randes der Säule gelb. Im UV. leuchtend gelbweiß.	Geht in Lösung, bleibt nicht am Aluminiumoxyd haften.	Geht in Lösung, bleibt nicht hängen.
Enteneigelb	Gelbliche Lösung, Oberfläche und 2 mm des oberen Randes der Säule rötlichgelb. Im UV. leuchtend gelb.	Geht in Lösung, bleibt nicht am Aluminiumoxyd haften.	Geht in Lösung, bleibt nicht hängen.
Kuchengelb	Rötlichgelbe Lösung, Oberfl. und 2 mm des oberen Randes der Säule gelbrot. Im UV. dunkel braunrot.	Rötlichgelbe Lösung, Oberfläche und 1 mm des oberen Randes der Säule gelbrot. Im UV. dunkel braunrot.	Chromatogramm wie aus Alkohol- und Acetonlösung.
Nudelgelb 1089	Gelbe Lösung, Oberfläche und 3 mm des oberen Randes der Säule gelb. Im UV. braun.	Chromatogramm wie aus Alkohollösung	Chromatogramm wie aus Alkohollösung.
Eigelb grünlich 1568	Gelbe Lösung, Oberfläche und 2 mm des oberen Randes der Säule grünlichgelb. Im UV. kaffeebraun.	Chromatogramm wie aus Alkohollösung	Chromatogramm wie aus Alkohollösung
Eigelb R 3829	Rötlichgelbe Lösung, Oberfl. und 2 mm des oberen Randes der Säule rötlichgelb. Im UV. dunkel rotbraun.	Chromatogramm wie aus Alkohollösung	Chromatogramm wie aus Alkohollösung.

Aus der Tabelle ist zu ersehen, daß allein aus 70proz. Alkohol ein Chromatogramm der Eierfarbstoffe zu erhalten war. Gelb gefärbt wurden die Oberfläche und etwa 2 mm des oberen Randes der Aluminiumoxydsäule. Im UV-Licht leuchtete diese Zone kräftig gelb auf. Ein Unterschied zwischen Hühner- und Enteneiern war nicht festzustellen. Bei Verwendung von 70proz. Aceton und von Pyridin als Lösungsmittel wurden die Farbstoffe weder von Aluminiumoxyd noch von Clarit festgehalten.

Nachdem dies feststand, untersuchte man das chromatographische Verhalten einiger Teerfarbstoffe, welche zum Färben von Teigwaren dienen, unter Benutzung der oben genannten Lösungsmittel. Dies waren 4 Erzeugnisse der Firma Brauns in Quedlinburg, die die Bezeichnungen Nudelgelb 1089, Eigelb grünlich 1568, Eigelb R 3829 und Kuchengelb trugen. Man löste von ihnen jeweils 1 mg in 10 ccm Flüssigkeit. Die Ergebnisse finden sich ebenfalls in der Tab. 2.

Daraus geht hervor, daß die künstlichen Farbstoffe sich wesentlich anders verhielten als die Dotterfarbstoffe. Während diese letzteren nur aus ihrer Lösung in 70proz. Alkohol adsorbiert wurden, ließen sich bei den Teerfarbstoffen auch aus 70proz. Aceton und aus Pyridin schöne und bezeichnende Chromatogramme gewinnen. In jedem

Fälle erschienen die obersten Schichten der Aluminiumoxydsäule stark gefärbt. Die Färbung schwankte je nach der Art des Erzeugnisses zwischen rötlichgelb, gelb und grünlichgelb. Im UV-Licht erschien diese Zone braunrot bis kaffeebraun.

Setzte man zu der Lösung des echten Eigelbfarbstoffes eine Lösung von gelbem Teerfarbstoff im gleichen Lösungsmittel hinzu, so ließen sich die beiden Farbstoffe auf chromatographischem Wege sehr deutlich trennen und unterscheiden. Es bildeten sich zwei gelbe Ringe aus, von denen der eine, höher liegende, im UV-Licht dunkelbraungelb aussah und somit vom Teerfarbstoff herrührte. Sämtliche der untersuchten künstlichen Farben zeigten auf Aluminiumoxyd ein größeres Haftvermögen als der echte Eierfarbstoff, der regelmäßig unterhalb des ersteren haften blieb.

b) Das Verhalten von gefärbten und ungefärbten Teigwaren.

Nachdem sich bei den im vorstehenden geschilderten Versuchen ergeben hatte, daß die reinen Farbstoffe der Hühner- und Enteneier von den Teerfarbstoffen auf chromatographischem Wege ohne Schwierigkeiten zu trennen sind, wurden die Versuche auf Eierteigwaren bzw. auf künstlich gefärbte Ware ausgedehnt. Das feingemahlene Untersuchungsmaterial behandelte man bei 30° einige Stunden lang mit dem Lösungsmittel. Die abfiltrierte Flüssigkeit wurde dann zum Chromatographieren benutzt.

Auch hier erwies sich 70proz. Aceton als am geeignetsten. Es nahm zwar auch, wie zu erwarten war, die Dotterfarbstoffe auf, doch war von diesen kein Chromatogramm zu erhalten. Teerfarbstoffe hingegen wurden auch dieses Mal von Aluminiumoxyd stark festgehalten. Zum Unterschied von den mit reinen Farbstoffen angestellten Versuchen zeigte sich aber, daß die gefärbte Zone beim Waschen der Säule mit 70proz. Aceton langsam nach unten wanderte. Irgendwelche Stoffe, die vom Aceton aus den Teigwaren aufgenommen worden waren, setzten also die Adsorbierbarkeit der Teerfarbstoffe herab. Im UV-Licht erschien die Farbzone bräunlichgelb.

Pyridin als Lösungsmittel lieferte ähnliche Ergebnisse. Auch hier ergaben die Dotterfarbstoffe kein Chromatogramm, während die Teerfarbstoffe in Form eines langsam wandernden gelben Ringes festgehalten wurden. Benutzte man 70proz. Alkohol zur Extraktion, so erhielt man sowohl aus Eierteigwaren, wie auch aus gefärbter Wasserware eine gelbe Lösung. Beim Chromatographieren auf Aluminiumoxyd bildete sich bei den Eierteigwaren ein einziger, etwa 3 mm blaßgelber Ring 4 mm unterhalb der Oberfläche, der im UV-Licht stark gelb aufleuchtete. Der Ring war nach unten nicht scharf begrenzt, sondern verlief allmählich. Das Auftreten dieses einen, einheitlich gelben Ringes ist von Interesse. Der Farbstoff des Eidotters ist keine einheitliche Substanz, er stellt vielmehr ein Gemenge verschiedener Carotinoide dar, die vorwiegend aus Lutein und Zeaxanthin bestehen. Es wäre verständlich gewesen, wenn diese Stoffe, die sich chemisch und im allgemeinen auch in ihrer Adsorbierbarkeit unterscheiden, ein aus mehreren Ringen bestehendes Chromatogramm gebildet hätten. Statt dessen wurden sie offensichtlich an der gleichen Stelle in Form einer einzigen gelben Zone festgehalten. Praktisch bedeutet das, daß durch den Zusatz von Maisgrieß zu den Eierteigwaren eine Änderung des Chromatogramms, die unter Umständen den Verdacht einer künstlichen Färbung hervorrufen könnte, nicht eintritt.

Die Teerfarbstoffe blieben aus ihrer Lösung in 70proz. Alkohol ebenfalls auf Aluminiumoxyd hängen. In diesem Falle entstanden aber zwei etwa 3 mm gelbe bis orange-gelbe Ringe. Dabei wurde der höher gelegene Ring von dem Teerfarbstoff gebildet,

was daraus hervorging, daß er im UV-Licht dunkelbraungelb aufleuchtete. Der zweite Ring rührte von Carotinoiden her, die aus dem Maisgrieß stammten und im UV-Licht in der für diese Stoffe bezeichnenden weißlich gelben Farbe erschienen. Bei Teigwaren, die aus einem Weizenmehl ohne Mais hergestellt waren, fehlte dieser zweite Ring, da der Carotinoidgehalt des Weizens viel zu gering ist, um bei den zum Versuch verwendeten Mengen in Erscheinung zu treten.

Bei jenen Eierteigwaren, deren gelbe Farbe zum Teil von Eigelb, zum anderen Teil von Teerfarbstoffen herrührte, erhielt man ebenfalls ein Chromatogramm mit 2 Ringen, das dem eben beschriebenen glich.

Die von verschiedenen gefärbten und ungefärbten Teigwaren mit den genannten Lösungsmitteln erhaltenen Chromatogramme sind in der Tab. 3 zusammengestellt.

Tabelle 3. Chromatographisches Verhalten von gefärbten und Eier-Teigwaren auf Aluminiumoxyd.

Lösungsmittel	Eierteigware	Gefärbte Teigware mit Zusatz von Maisgrieß
Pyridin	Geht in Lösung, läuft durch.	Gelbe Lösung, gelber Ring langsam durch die Säule wandernd.
70proz. Alkohol	Gelbe Lösung, ein blaßgelber Ring. Im UV. leuchtend gelb.	Gelbe Lösung, zwei gelbe Ringe, von denen einer im UV. bräunlichgelb bis kaffeebraun aussieht.
70proz. Aceton	Geht in Lösung, läuft durch.	Gelbe Lösung, gelber Ring, langsam wandernd. Im UV. bräunlichgelb.

Das Auftreten eines nur ganz langsam wandernden Ringes in der Aluminiumoxydsäule bei Verwendung eines Teigwaren-Auszuges, der mit 70proz. Aceton hergestellt worden ist, oder die Bildung von zwei scharf getrennten Ringen aus dem Extrakt mit 70proz. Alkohol, wäre nach dem Vorhergehenden schon beweisend für die Anwesenheit von Teerfarbstoffen. Es zeigte sich aber, daß der Nachweis noch durch eine zweite Reaktion gesichert werden kann.

Behandelte man das Chromatogramm der künstlichen Farbstoffe, die mit 70proz. Alkohol oder mit 70proz. Aceton aus einer gefärbten Teigware extrahiert worden waren, mit 25proz. wässriger Salzsäure, so konnte in sämtlichen Fällen ein Farbumschlag des obersten Ringes von Gelb nach Rot festgestellt werden. Der entstandene, rosa gefärbte Ring wanderte langsam durch die Säule und leuchtete im UV-Licht rotviolett auf. Der aus alkoholischer Lösung adsorbierte Eidotterfarbstoff wurde durch die Salzsäure zerstört.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß schon das Auftreten eines einzigen Ringes im mit 70proz. Aceton hergestellten Chromatogramm von Eierteigwaren bzw. eines zweiten Ringes bei Verwendung von 70proz. Alkohol als Lösungsmittel die Vermutung, daß Teerfarbstoffe verwendet wurden, weitgehend bestätigt. Tritt dann unter der Quarzlampe nicht die leuchtend weißlichgelbe Farbe des Luteins und des Zeaxanthins für den oder die Ringe auf, sondern zeigt der eine eine abweichende dunklere, braune Farbe, so ist der Nachweis der künstlichen Färbung erbracht. Der Beweis läßt sich noch erhärten durch die Farbreaktion mit Salzsäure. Noch bei einem Ansatz von 1 g der Teigware, die mit 70proz. Alkohol extrahiert worden war, gelang es, ein einwandfreies Chromatogramm zu erhalten. Die zur Durchführung einer Untersuchung notwendigen Materialmengen können demnach bedeutend geringer sein, als die für die Wollfadenprobe angewendeten.

Der Nachweis der künstlichen Färbung von Tomatenmark.

Die Hauptverwendungsart der Tomate in der Nahrungsmittelindustrie wie auch in der Küche ist nicht die reife Frucht, die nur während eines verhältnismäßig kurzen Teiles des Jahres zur Verfügung steht und deren Transport über größere Strecken kostspielig ist. Ausgedehnte Verwendung findet vielmehr eine aus ihr gewöhnlich an Ort und Stelle hergestellte Konserve, das Tomatenmark, das sowohl das angenehme Aroma, wie auch die prachtvolle rote Farbe der natürlichen Frucht besitzen soll.

Wird das Mark nicht aus reifen unversehrten Tomaten hergestellt, sondern zu seiner Bereitung noch nicht ausgereifte oder sonst mit irgendwelchen Fehlern behaftete Ware verarbeitet, so wirkt sich dies auch auf die Farbe des Erzeugnisses aus, die man dann nicht selten mit wasserlöslichen Teerfarbstoffen verbessert.

Um zu prüfen, wie weit eine solche Nachfärbung mit Hilfe der Adsorptionsanalyse festzustellen ist, wurde zuerst versucht, das chromatographische Verhalten der Tomatenfarbstoffe aus verschiedenen Lösungsmitteln festzulegen. Als Adsorptionsmittel bewährte sich wiederum Aluminiumoxyd. Als Lösungsmittel wurden Pyridin, Benzol, Schwefelkohlenstoff, Äther, Petroläther, Methylalkohol, 70proz. Äthylalkohol und Aceton verwendet. Unterschiede, welche durch die verschiedene Herkunft des Materials hätten bedingt sein können, wurden nicht beobachtet; Proben von ungefärbter italienischer und ungarischer Ware verhielten sich vollkommen gleich.

Aus Pyridin (reinst, Merck), in dem der Farbstoff mit tieferer Farbe löslich war, ließ er sich nicht auf Aluminiumoxyd chromatographieren, sondern lief vollständig durch die Säule. Benzol nahm den Farbstoff in der Kälte mit gelblich roter Farbe auf und gab auf Aluminiumoxyd folgendes Chromatogramm: Die Oberfläche und 1 mm des oberen Randes der Säule waren gelb gefärbt, darunter folgte eine 2 mm breite weiße Zone, an die sich eine 1 mm breite blaßrote anschloß, auf die unmittelbar ein 5 mm breiter rosa und 2 mm breiter leuchtend rot gefärbter Ring folgten.

Die rote Schwefelkohlenstofflösung färbte die Oberfläche des Aluminiumoxyds in einer Tiefe von etwa 4 mm hellrot. Das gleiche Chromatogramm erhielt man mit dem Petroläther-Auszug, während die Extrakte mit Methylalkohol, 70proz. Alkohol und Aceton keine bezeichnende Färbung lieferten. Die schwach rosa gefärbte ätherische Lösung wiederum zeigte folgendes Chromatogramm: Die Oberfläche und 2 mm des oberen Randes der Säule waren gelb gefärbt, dann folgte ein Zwischenraum von 50 mm ungefärbter Säule, an die sich ein 10 mm breiter bräunlichgelber und ein 4 mm breiter rosa gefärbter Ring anschlossen.

Die Chromatogramme der mit den verschiedenen Lösungsmitteln hergestellten Auszüge aus ungefärbtem Tomatenmark sind in der folgenden Tab. 4 zusammengestellt.

Von Teerfarbstoffen, die zum Färben von Tomatenmark dienen können, standen 2 Proben, Tomatenrot 3242 und Krebsrot 2872, zur Verfügung¹. Wie man erwarten konnte, waren diese in Benzol, Äther, Schwefelkohlenstoff und Petroläther unlöslich. Pyridin, Methylalkohol, 70proz. Alkohol und Aceton lieferten rote bis gelbe Lösungen, die in der Aluminiumoxydsäule recht bezeichnende Chromatogramme ergaben. Im allgemeinen wurden die Oberfläche und die unmittelbar darauffolgenden Schichten stark

¹ Der Firma W. Brauns, Quedlinburg, sei auch an dieser Stelle für die Überlassung der Farbstoffe gedankt.

Tabelle 4. Chromatographisches Verhalten von Auszügen aus Tomatenmark auf Aluminiumoxyd.

Lösungsmittel	Beschreibung der Chromatogramme
Pyridin	Die rote Lösung läuft durch die Säule.
Benzol	Gelbrote Lösung, Oberfläche und 1 mm des oberen Randes der Säule gelb, 2 mm weiß, 5 mm rosa, 1 mm blaßrot, 2 mm rot.
Schwefelkohlenstoff	Hellrote Lösung, Oberfläche und 4 mm des oberen Randes der Säule leuchtend rot.
Äther	Blaßrosa Lösung; am oberen Rande der Säule 2 mm gelber Ring, 50 mm ungefärbt, 10 mm bräunlichgelb verlaufend, 4 mm rosa.
Petroläther	Rote Lösung, Oberfläche und 2 mm des oberen Randes der Säule hellrot.
Methylalkohol	Rötlich gelbe Lösung, läuft durch die Säule.
70proz. Äthylalkohol	Rötlich gelbe Lösung, läuft durch die Säule.
Aceton	Rötlich gelbe Lösung, läuft durch die Säule.

rot gefärbt. Beim Tomatenrot 3242 trat bei Verwendung von 70proz. Alkohol bzw. von Aceton eine Trennung des Farbstoffes in einen roten und einen gelben Anteil ein. Die Ergebnisse der Versuche sind in der Tab. 5 zusammengestellt.

Zur künstlichen Färbung des Tomatenmarks wurde eine geringe Menge der Farbstoffe in Wasser gelöst und mit dem Mark verrührt. Nach einigen Stunden verteilte man dann das Untersuchungsmaterial in einem der Lösungsmittel, ohne vorher zu trocknen, erwärmte $\frac{1}{2}$ Stunde auf 30°, filtrierte ab und gab den Auszug auf Aluminiumoxyd.

Tabelle 5. Chromatographisches Verhalten von Tomatenrot 3242 und Krebsrot 2872 auf Aluminiumoxyd.

Lösungsmittel	Beschreibung der Chromatogramme von	
	Tomatenrot 3242	Krebsrot 2872
Pyridin	Tiefrote Lösung, Oberfläche und 1 mm des oberen Randes der Säule blutrot.	Gelblichrote Lösung, Oberfläche u. 1 mm des oberen Randes der Säule gelbrot.
Methylalkohol	Rote Lösung, Oberfläche u. 2 mm des oberen Randes der Säule leuchtend rot, anschließend 2 mm rötlichgelbe Zone.	Rote Lösung, Oberfläche u. 1 mm des oberen Randes der Säule leuchtend rot.
Äthylalkohol 70proz.	Rote Lösung, Oberfläche u. 2 mm des oberen Randes der Säule leuchtend rot, anschließend verlaufende gelbe Zone.	Rote Lösung, Oberfläche u. 1 mm des oberen Randes der Säule leuchtend rot.
Aceton	Gelbrote Lösung, Oberfläche und 1 mm des oberen Randes der Säule blutrot.	Gelbe Lösung, Oberfläche u. 1 mm des oberen Randes der Säule rötlich gelb.

Wie vorauszusehen war, lieferten Methylalkohol, 70proz. Alkohol und Aceton die besten Ergebnisse, da die natürlichen Farbträger der Tomate aus diesen Lösungen vom Aluminiumoxyd nicht festgehalten werden, während es die künstlichen Farbstoffe gerade in diesem Falle stark adsorbiert. Aus der Tab. 6, in der die Resultate zusammengestellt sind, ist zu ersehen, daß je nach der Art der Teerfarbstoffe verschiedene Farbzonen auftreten, die unter diesen Bedingungen mit den natürlichen Tomatenfarbstoffen auf keinen Fall zu erhalten sind.

Tabelle 6. Chromatographisches Verhalten von mit Tomatenrot 3242 bzw. Krebsrot 2872 nachgefärbtem Tomatenmark auf Aluminiumoxyd.

Lösungsmittel	Beschreibung der Chromatogramme von	
	mit Tomatenrot nachgefärbtem Tomatenmark	mit Krebsrot nachgefärbtem Tomatenmark
Pyridin	Rote Lösung, Oberfläche u. 4 mm d. oberen Randes d. Säule dunkelrot, die in Lösung gegangenen Tomatenfarbstoffe laufen durch.	Rote Lösung, Oberfläche u. 3 mm des oberen Randes der Säule schmutzig dunkelrot, der in Lösung gegangene Tomatenfarbstoff läuft durch.
Benzol	Rötlichgelbe Lösung, Oberfläche und 1 mm des oberen Randes der Säule rötlichgelb, 1 mm weiß, 15 mm rosarot.	Gelblichrote Lösung, Oberfläche und 0,5 mm des oberen Randes der Säule gelb, 1 mm weiß, 10 mm hellrot, 2 mm weiß, 1 mm bräunlichrot
Schwefelkohlenstoff	Hellrote Lösung, Oberfläche und 2 mm des oberen Randes der Säule dunkelrot, anschließend 4 mm hellrote Zone.	Hellrote Lösung, Oberfläche und 2 mm des oberen Randes der Säule dunkelrot.
Äther	Rötlichgelbe Lösung, Oberfläche und 1 mm des oberen Randes der Säule blaßgelb, 10 mm ungefärbt, 20 mm rosa, 2 mm weiß, 1 mm braun.	Rötlichgelbe Lösung, Oberfläche und 0,5 mm des oberen Randes der Säule gelblich, 10 mm weiß, 20 mm rosa, 2 mm rot.
Petroläther	Rötlichgelbe Lösung, Oberfläche und 2 mm des oberen Randes der Säule hellrot.	Rötlichgelbe Lösung, Oberfläche und 1 mm des oberen Randes der Säule hellrot.
Methylalkohol	Rote Lösung, Oberfläche u. 2 mm des oberen Randes der Säule rot, 1 mm weiß, 3 mm rötlichgelbe Zone.	Rote Lösung, Oberfläche u. 2 mm des oberen Randes der Säule blaßrot, 1 mm leuchtend rot, 2 mm gelb, der Tomatenfarbstoff läuft durch.
70proz. Äthylalkohol	Rote Lösung, 1 mm des oberen Randes der Säule dunkelrot, anschließend 7 mm bräunlichgelbe Zone.	Rote Lösung, Oberfläche u. 3 mm des oberen Randes der Säule blaßrot, 1 mm leuchtend rot, 2 mm gelb, der Tomatenfarbstoff läuft durch.
Aceton	Hellrote Lösung, Oberfläche und 1 mm des oberen Randes der Säule leuchtend rot, 1 mm weiß, 2 mm hellbraun, d. in Lösung gegangenen Tomatenfarbstoffe laufen durch.	Gelbrote Lösung, Oberfläche rötlichgelb, 0,5 mm leuchtend rot, 3 mm gelb, 0,5 mm grünlichgelb, der Tomatenfarbstoff läuft durch.

Tomatenmark wird zur Zeit von der Lebensmittelindustrie zur Herstellung zahlreicher Erzeugnisse gebraucht, wobei häufig neben einer Geschmacksverbesserung auch eine angenehme Färbung erzielt werden soll. Es erschien deshalb nicht uninteressant festzustellen, ob mittels der Adsorptionsanalyse die Verwendung von Tomaten oder anderen färbenden Stoffen nachgewiesen werden kann.

Als Beispiel einer solchen Untersuchung wurde die Tunke von Fettheringen gewählt, die der Kennzeichnung nach mit Tomaten hergestellt sein sollte.

Zur Gewinnung einer Lösung der Tomatenfarbstoffe wurde die Tunke mit Benzol einige Zeit auf dem Wasserbade auf etwa 40° erwärmt, absitzen gelassen, durch ein mit Benzol angefeuchtetes Filter gegeben und diese Lösung auf Aluminiumoxyd chromatographiert. Ebenso wurde ein mit Äther erhaltener Auszug geprüft. Die Chromatogramme sind in der Abb. 1 den aus reinem Tomatenmark erhaltenen gegenübergestellt.

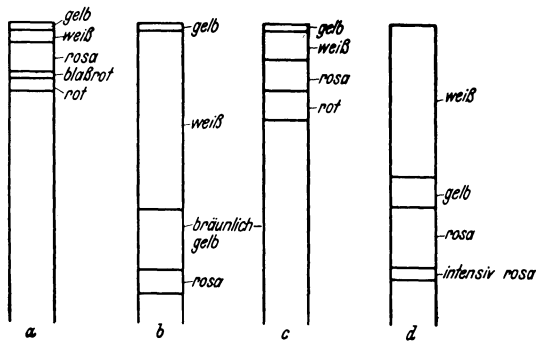


Abb. 1. Chromatogramme von Tomatenmark (a und b) und Tunke von Tomatenheringen (c und d).
Bei a und c diente Benzol, bei b und d Äther als Lösungsmittel.

Es läßt sich daraus eindeutig feststellen, daß bei der Herstellung der Fettheringe wirklich Tomaten verwendet wurden. Die Zonenfolge in den beiden Chromatogrammen entspricht derjenigen der reinen Tomatenfarbstoffe, wenn auch die Lage der einzelnen Ringe zueinander durch das in der Tunke enthaltene Fett usw. eine geringfügige Änderung erfahren hat.

Lebenslauf

Am 16. Mai 1911 wurde ich, Karl Ernst Schulte, als Sohn des im Weltkrieg gefallenen Sattlermeisters Karl Schulte und seiner Ehefrau Auguste, geb. Hellmann, zu Bautenheide, Gemeinde Deilinghofen (Westfalen) geboren. Nach vierjährigem Besuch der Volksschule zu Deilinghofen trat ich in die Realschule zu Hemer (Westf.) an Ostern 1921 ein und besuchte ab Ostern 1928 die Oberrealschule zu Iserlohn (Westf.). Diese Anstalt verließ ich Ostern 1931 mit dem Reifezeugnis. Im Mai des gleichen Jahres wurde ich Apothekenpraktikant in der Engelapotheke in Iserlohn, in der ich nach bestandem Vorexamen weiterhin 9 Monate tätig war. Im Sommersemester 1934 studierte ich am Pharmazeutischen Institut der Universität Berlin, im Wintersemester 1934/35 in der anorganischen Abteilung des Chemischen Laboratoriums der Bayerischen Akademie der Wissenschaften zu München und vom Sommersemester 1935 bis zum Wintersemester 1935/36 im Pharmazeutischen Institut der Universität München. Am 27. März 1936 legte ich das pharmazeutische Staatsexamen ab. Anschließend studierte ich Chemie und Lebensmittelchemie im Chemischen Laboratorium des Staates bzw. Institut für Pharmazeutische- und Lebensmittelchemie in München. Am 25. Juni 1937 bestand ich das zweite chemische Verbandsexamen und im Dezember 1938 die Hauptprüfung für Nahrungsmittelchemiker.

Mit der vorliegenden Arbeit war ich seit dem Wintersemester 1937/38 beschäftigt.