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

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 69 (1978)

Heft: 2

Artikel: Zur Bestimmung der fettfreien Kakaotrockenmasse in malzhaltigen Nährmitteln

Autor: Blumenthal, A. / Cerny, M. / Helbling, J.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-983329

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: 15.07.2025

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

Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **69**, 285—291 (1978)
Eingegangen 3. April 1978. Angenommen 14. April 1978

Zur Bestimmung der fettfreien Kakaotrockenmasse in malzhaltigen Nährmitteln

A. Blumenthal, M. Cerny und *J. Helbling*
Zentral-Laboratorium des Migros-Genossenschafts-Bundes (MGB), Zürich

Einleitung

Zur Bestimmung der fettfreien Kakaotrockenmasse in Lebensmitteln wird der Alkaloidgehalt, als Theobromin berechnet, herangezogen. Im Schweiz. Lebensmittelbuch (1) werden zwei verschiedene Methoden aufgeführt.

Im Kapitel 36 C wird die UV-Methode beschrieben. Die Alkaloide werden mit Wasser extrahiert. Nach Klärung der Lösung mit Bleiessig wird das überschüssige Blei mit Carbonat gefällt. Ein aliquoter Teil dieser Lösung wird angesäuert, verdünnt, und die Absorption im UV gemessen. Aus der Absorption werden die Alkaloide als Theobromin berechnet.

Im Kapitel 22 C wird die Perforationsmethode dargestellt. Das mit Magnesiumoxid aufgeschlossene Produkt wird einer Perforation mit Chloroform unterworfen. Im Rückstand des Chloroformextraktes wird der Stickstoffgehalt bestimmt. Aus dem Stickstoffgehalt werden die Alkaloide als Theobromin berechnet.

Bei malzhaltigen Nährmitteln versagt die UV-Methode, da sie zu hohe Werte liefert (2). Die Perforationsmethode, die brauchbare Resultate liefert, ist zeitraubend und für Routineuntersuchungen nicht geeignet. Wir suchten deshalb nach einer einfacheren Methode.

Experimentelles

Die zu hohen Resultate der UV-Methode werden nach unseren Beobachtungen durch Inhaltsstoffe des Malzextraktes verursacht. Diese absorbieren im ähnlichen UV-Bereich wie die Alkaloide. Da die beiden Alkaloide des Kakaos, Theobromin und Coffein, mit Hilfe der Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) nach Literaturangaben (3, 4) gut getrennt werden können, vermuteten wir, daß diese Methode auch zur Abtrennung der störenden Substanzen geeignet sei. Die Trennung von Theobromin und Coffein kann an einer Adsorptionssäule (3) wie auch an einer chemisch gebundenen Umkehrphase (4) durchgeführt werden. Die chemisch gebundene Umkehrphase hat den Vorteil einer schnellen Gleichgewichtseinstellung, ist leicht regenerierbar, und die Proben können als wässrige Lösungen eingespritzt werden.

Mit einer geeigneten mobilen Phase ist es uns tatsächlich gelungen, die störenden Substanzen vollständig vor den beiden, gut voneinander getrennten Alkaloiden zu eluieren (siehe Abb. 1).

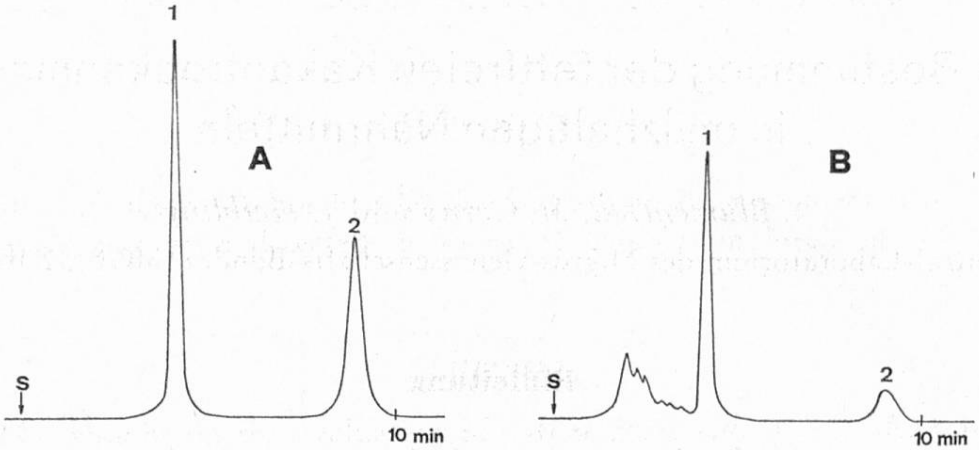

Abb. 1. HPLC-Trennung von Theobromin und Coffein

A Standardlösung
B Nährmittelextrakt
1 Theobromin
2 Coffein

Bemerkung: HPLC-Bedingungen siehe Seite 287

Weitere HPLC-Versuche zeigten, daß die störenden Substanzen des Malzextraktes mit Chloroform nicht extrahiert werden. Diese Feststellung führte zu einer Modifikation der Perforationsmethode. Nach der Extraktion mit Chloroform lassen sich nämlich die Alkaloide direkt mittels UV-Absorption bestimmen.

Arbeitsvorschriften

HPLC-Methode

Prinzip

Die Alkaloide Theobromin und Coffein werden mit heißem Wasser aus der Probe extrahiert. Die Trennung erfolgt an einer Hochdruckchromatographiesäule mit der C 18 chemisch gebundenen Umkehrphase. Als Eluens dient eine Wasser-Methanol-Mischung.

Die beiden Substanzen werden nach dem Verlassen der Säule mit einem spektralphotometrischen Detektor nachgewiesen und gemessen.

Reagenzien

Bleiessig basisch Ph. Helv. VI
Natriumhydrogencarbonat p. A.

Methanol p. A.
Coffein p. A.
Theobromin p. A.

Geräte

Hochdruck-Flüssigkeitschromatograph mit Spektralphotometer-Detektor.

Probenvorbereitung

3 g Nährmittel (genau gewogen) werden mit Siedesteinchen in einen 300-ml-Erlenmeyerkolben gegeben. Auf der Tarierwaage wird das Gewicht des Kolbens samt Inhalt auf 0,1 g genau bestimmt. Aus einem Meßzylinder fügt man 96 ml Wasser zu und erhitzt unter häufigem Umschwenken zum Sieden. Während 5 Minuten läßt man leicht kochen. In die heiße Lösung tropft man unter Umschwenken 4 ml Bleiessig. Der Kolben wird abgekühlt, außen getrocknet und gewogen. Das verdampfte Wasser wird ergänzt, bis das Gewicht der Flüssigkeit 101 g beträgt (101 g = 100 ml). Der Kolbeninhalt wird gut durchgemischt und durch ein Faltenfilter filtriert. Die ersten 10 ml des Filtrates werden verworfen. Zu ca. 50 ml des Filtrates gibt man 0,5 g Natriumhydrogencarbonat. Dabei fällt Bleicarbonat aus. Man filtriert durch ein Faltenfilter, wobei die ersten 10 ml des Filtrates wieder verworfen werden.

Vor dem Einspritzen auf die HPLC-Säule wird die Lösung einer Feinfiltration durch ein Membranfilter (0,45 µm Porengröße) unterworfen.

HPLC-Trennung

Trennsäule:	Chemisch gebundene unpolare Umkehrphase (Waters Micro Bondapack C 18, 30 cm Länge i. D. 3,9 mm)	
Elutionsmittel:	Wasser + Methanol = 75+25 (V+V)	
Durchfluß:	1,5 ml/min	
Einspritzmenge:	25 µl	
UV-Detektor:	273 nm	
Bereich:	A = 0,5	
Standardlösungen:	Theobromin	100 µg/ml
	Coffein	100 µg/ml
Retentionszeiten:	Theobromin	4,0 min
	Coffein	8,8 min

Berechnungen

Die Berechnung des Gehaltes der Alkaloide erfolgt mit Hilfe eines externen Standards. Bei Benützung eines Integrators oder Datensystems wird mit der Peakfläche, sonst mit der Peakhöhe gerechnet.

$$\text{Alkaloid in } \% = \frac{Ap \cdot C_s \cdot V}{A_s \cdot E} \cdot 10^{-4}$$

Ap = Meßwert der Probe (Peakfläche oder -höhe)
As = Meßwert Standard
Cs = Konzentration Standard (µg/ml)
V = Volumen der Nährmittellösung (ml)
E = Einwaage Nährmittel (g)

Die Formel gilt für Theobromin sowie Coffein.

Bei einer Einwaage von 3 g Nährmittel in 100 ml und einer Standardkonzentration von 100 µg/ml vereinfacht sich die Formel wie folgt:

$$\text{Alkaloidgehalt in } \% = \frac{Ap}{As \cdot 3}$$

Zur Berechnung der fettfreien Kakaotrockenmasse wird ein durchschnittlicher Alkaloidgehalt von 3,5%eingesetzt.

$$\text{Fettfreie Kakaotrockenmasse in } \% = \frac{\%\ \text{Theobromin} + \%\ \text{Coffein}}{0{,}035}$$

Modifizierte Perforationsmethode

Prinzip

Die Probe wird mit Wasser erhitzt. Durch Zugabe von Bleiessig wird die Lösung geklärt. Aus einem aliquoten Teil des Filtrates werden die Alkaloide im Perforator mit Chloroform extrahiert. Anschließend wird das Chloroform abgedampft. Den Rückstand löst man in heißem Wasser. Aus der Absorption der wässerigen Lösung werden die Alkaloide als Theobromin berechnet.

Reagenzien

Bleiessig Ph. Helv. VI
Chloroform p. A.

Geräte

Perforator (Flüssig-Flüssig-Extraktor)
UV-Spektralphotometer

Extraktion der Alkaolide

3 g Nährmittel werden nach der Vorschrift der HPLC-Methode behandelt (5). 50 ml des geklärten Filtrates werden in einen mit Chloroform beschickten Perforator gebracht und extrahiert. Das Chloroform soll dabei in rascher Folge vom

Kühler tropfen. Nach einer Extraktionsdauer von 8 Stunden wird das Chloroform abdestilliert. Den Rückstand trocknet man während 15 Minuten bei 103 bis 105°C.

UV-Messung

Der Rückstand wird in heißem Wasser gelöst und quantitativ in einen 100-ml-Meßkolben überführt. Nach dem Abkühlen wird zur Marke aufgefüllt. 10 ml (evtl. 20 ml) dieser Lösung werden mit Wasser zu 100 ml verdünnt. Die Absorptionskurve wird in 1 cm Quarzküvetten, im UV-Bereich zwischen 240 und 320 nm aufgenommen. Als Vergleichslösung dient Wasser.

Berechnungen

Aus der UV-Messung werden die Gesamtalkaloide als Theobromin berechnet. Zur Korrektur des Untergrundes subtrahiert man vom Maximum der gemessenen Extinktion bei 272 nm die Extinktion bei 306 nm.

$$\text{Gesamtalkaloide als Theobromin in } \% = \frac{17{,}7\,(E_{max.} - E_{306}) \cdot 2}{A \cdot V}$$

$E_{max.}$ = Extinktion im Absorptionsmaximum bei 272 nm
A = Einwaage Nährmittel (g)
V = Volumen der Lösung, die zur Herstellung der Meßlösung eingesetzt wurde (ml)

$$\text{Fettfreie Kakaotrockenmasse in } \% = \frac{\%\ \text{Theobromin}}{0{,}035}$$

Vergleichende Resultate

Tabelle 1. Gehalt an fettfreier Kakaotrockenmasse in verschiedenen malzhaltigen Nährmitteln

Nährmittel	Fettfreie Kakaotrockenmasse		
	HPLC Methode	Mod. Perforations-methode	Direkte UV-Methode
A	10,8%	11,3%	18,9%
B	10,5%	10,6%	15,7%
C	9,8%	9,4%	13,7%
D	8,2%	8,0%	12,5%
E	7,7%	7,7%	14,9%

Die Zusammenstellung in Tabelle 1 zeigt den Gehalt an fettfreier Kakaotrockenmasse in malzhaltigen Nährmitteln, nach verschiedenen Methoden bestimmt. Die HPLC- und die mod. Perforations-Methoden liefern Resultate, die recht gut mit den uns bekannten Rezepturen übereinstimmen. Die Werte der direkten UV-Methode sind 40—90% höher. Diese Vergleiche bestätigen die Unbrauchbarkeit der direkten UV-Methode zur Bestimmung der fettfreien Kakaotrockenmasse in malzhaltigen Nährmitteln.

Der Gehalt an Theobromin und Coffein ist in den einzelnen Kakaosorten sehr unterschiedlich (6, 7). Zur Berechnung der fettfreien Kakaotrockenmasse wurde ein durchschnittlicher Alkaloidgehalt von 3,5% eingesetzt.

Dank

Für die Mitarbeit sei Fräulein *J. Le Roy* und *Frau E. Taube* an dieser Stelle herzlich gedankt.

Zusammenfassung

Eine Bestimmung der fettfreien Kakaotrockenmasse in malzhaltigen Nährmitteln mittels Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie wurde entwickelt. Sie basiert auf der Erfassung des Gehaltes an Alkaloiden. Dabei werden die wässerigen Probenextrakte mit einer Wasser-Methanol-Mischung (3 : 1) aus einer Säule mit chemisch gebundener Umkehrphase (C 18) eluiert. Theobromin und Coffein werden so von den störenden Substanzen des Malzextraktes getrennt und können durch UV-Absorption bei 273 nm quantitativ erfaßt werden.

Ferner wird eine Aenderung der offiziellen Perforationsmethode für obige Bestimmung beschrieben.

Die nach beiden Methoden ermittelten Werte ergaben gute Uebereinstimmung.

Résumé

La teneur en substance sèche et dégraissée de cacao d'aliments fortifiants à base de malt a été déterminée au moyen de la chromatographie liquide à haute pression. La méthode est basée sur la détermination de la teneur en alcaloïdes. Les extraits aqueux des échantillons sont élués avec un mélange eau-methanol (3 : 1) sur colonne à phase inversée (C 18). De cette manière la théobromine et la caféine sont séparées des substances gênantes de l'extrait de malt et peuvent être déterminées quantitativement à l'aide de l'absorption UV à 273 nm.

Une modification du mode opératoire de la méthode officielle par perforation utilisée pour la détermination sus-mentionnée est en outre décrite.

Les résultats obtenus par les deux méthodes sont concordants.

Summary

The application of high pressure liquid chromatography for the determination of fat free dry matter of cacao in malt containing products is described. The method is based on the determination of the alkaloids content. The water soluble fractions of the samples are eluted through a chemically bonded reversed phase column (C 18) using a 3:1 water-methanol mixture. Theobromine and caffeine are separated from interfering substances of the malt extract and their amounts are measured by UV-absorption at 273 nm.

A modification of the official extraction method for the above determination is also described.

The results obtained by these two methods were in good agreement.

Literatur

1. Schweizerisches Lebensmittelbuch, Methoden für die Untersuchung und Beurteilung von Lebensmitteln und Gebrauchsgegenständen, Zweiter Band, Spezieller Teil. Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale, Bern 1973.
2. *Hadorn, H.* und *Zürcher K.:* Analyse von Pulvern für Frühstücks- und Nährgetränke auf Basis von Kakao, Zucker, Malzextrakt, Milch und Eiern. Kakao u. Zucker **28**, 193—201 (1976).
3. *Wildanger, W.:* Beitrag zur quantitativen Bestimmung von Coffein, Theophyllin und Theobromin mit Hilfe der Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie. Deut. Lebensm. Rundschau **72**, 160—161 (1976).
4. Waters Associates N 67. Rapid an reliable analysis of beverages, 1976.
5. *Hadorn, H.* und *Zürcher, K.:* UV-Spektrophotometrische Theobromin-Bestimmung in Kakao und Schokolade. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **56**, 491—515 (1965).
6. *Hadorn, H.* und Zürcher, K.: Ueber die Theobromin-Bestimmung und die Berechnung der fettfreien Kakaomasse in Schokoladen. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **55**, 217—242 (1964).
7. *Asamoa, Y.:* Coffeingehalt in Kakaobohnen. Gordian **76**, 138—141 (1976).

Dr. A. Blumenthal
M. Cerny
J. Helbling
Zentral-Laboratorium
des Migros-Genossenschafts-Bundes
Limmatstraße 152
CH-8005 Zürich