

Beitrag zur Diskussion über die Schalenbestimmung in Kakao II

Autor(en): **Josephy, Grete**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **47 (1956)**

Heft 4

PDF erstellt am: **14.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983971>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Beitrag zur Diskussion über die Schalenbestimmung in Kakao II¹⁾

Von Grete Josephy

(Mitteilung aus dem Kantonalen Laboratorium Zürich)

Seit dem Abschluss der letzten Mitteilung wurde eine grössere Anzahl von Kakaoproben mit dem Phasenkontrast-Mikroskop auf ihren Schalengehalt untersucht. Zum Teil handelte es sich um eingesandte Proben, zum Teil um Nachkontrolle schon untersuchter Proben. Es sollte in erster Linie abgeklärt werden, wie sich die Zuverlässigkeit und Reproduzierbarkeit der Resultate mit Hilfe des Phasenkontrast-Mikroskopes gestaltet.

Auch die Methoden der Vorbereitung der Proben, speziell gewisse Abweichungen von der Methode *Wagenaar*, sollen etwas ausführlicher beschrieben werden.

Es werden die folgenden Punkte ausgeführt:

1. Die Methode des Aufschlusses und der Vorbereitung, auch in nicht der Norm entsprechenden Proben.
2. Ein Spezialfall, der nicht in der üblichen Art untersucht werden konnte.
3. Mikroskopie.
Vergrösserung, Berechnung der Resultate, Erfahrungen mit dem Phasenkontrast-Mikroskop an Hand verschiedener Auszählungen.
4. Mikroskopie der Keime.

1. Die Methode des Aufschlusses und der Vorbereitung auch in nicht der Norm entsprechenden Proben

Der entfettete Kakao wird sofort möglichst quantitativ aus dem Zentrifugierrohr in eine kleine Porzellanschale übergeführt, am besten mit Hilfe eines langen schmalen Nickelspatels. Doppelproben gibt man in die gleiche Schale, um einen guten Durchschnitt zu erzielen. Bis die Hauptmenge des Äthers verdunstet ist, wird die Masse ständig mit dem Spatel gemischt, um ein Zusammenballen zu verhindern. Dann lässt man den Rest des Äthers an der Luft verdunsten. Schokolade muss nach dem Entfetten noch entzuckert werden, was am besten nach der folgenden Vorschrift geschieht:

Zum entfetteten, mehr oder weniger ätherfreien Rückstand (im Zentrifugierrohr immer wieder aufkratzen und mischen) gibt man 30-40 ml Wasser, mischt 2 Minuten lang mit einem Glasstab, zentrifugiert und dekantiert, dies wird einmal wiederholt. Der Rückstand wird auf dieselbe Weise 2 Mal mit 95prozentigem Alkohol und 2 Mal mit Äther behandelt und zum Trocknen in eine Porzellanschale übergeführt.

Von dem auf die erste oder zweite Art gewonnenen Ausgangsmaterial werden 0,5 g genau abgewogen und nach *Wagenaar* (2) aufgeschlossen und weiter verarbeitet.

Bei normalen Proben mit einem Schalengehalt von maximal 10 % wird der wasserhaltige Rückstand im kleinen Zentrifugierröhrchen nach Vorschrift mit Glycerin auf 5 g ergänzt. Als kleine Abänderung wurde aber das Tröpfchen für die Auszählung direkt auf dem Objektträger abgewogen; es ist also nicht nötig, ein Glasstäbchen mitzuwägen. Diese Art der Probeentnahme erwies sich speziell bei stärkeren Verdünnungen günstiger und ist mit Hilfe der Mettlerwaage ohne Gewichtsveränderung möglich.

Bei Proben mit abnormal hohen Schalengehalten, wie sie in letzter Zeit öfters eingesandt wurden, muss eine stärkere Verdünnung angewendet werden. Der zur Auszählung kommende Schalengehalt sollte 10 % keinesfalls übersteigen. Bei höherem Schalengehalt wird der Rückstand anstatt in das kleine Zentrifugierröhrchen in ein kleines Stöpsel-Erlenmeyerkölbchen übergeführt und auf die notwendige Verdünnung gebracht. Hiezu ist noch zu bemerken, dass bei einer starken Verdünnung zuviel Glycerin zugefügt werden muss im Verhältnis zum Gesamtgewicht. Normalerweise wird 1,2—1,5 g wässrige Phase gewogen, diese beträgt also beim Ergänzen auf 5 g $\frac{1}{3}$ bis $\frac{1}{4}$ der Gesamtmenge. Trotzdem bei hohen Schalengehalten der wasserhaltige Rückstand schwerer ist, nämlich 2—2,5 g, müssen bei einer Verdünnung auf z.B. 50 g noch 8—10 ml Wasser zugefügt werden, damit ungefähr das normale Verhältnis von Glycerin : wasserhaltigem Rückstand entsteht und die Probe nicht zähflüssig ist.

Je grösser die Verdünnung, desto schwieriger ist es, eine homogene Probe zu erhalten. Es muss deshalb besondere Sorgfalt zur Erzielung einer guten Durchmischung angewendet werden. Vor jeder Entnahme des Tröpfchens für die Auszählung muss die Probe durch Schütteln und Rühren mit dem Glasstab gut gemischt werden; es ist besser, den Glasstab einzutauchen, einen Teil abfliessen zu lassen und einen kleinen Tropfen auf den Objektträger zu bringen.

2. Ein Spezialfall, der nicht in der üblichen Art untersucht werden konnte

Der Aufschluss von 0,5 g Pulver wies grössere, von blossen Auge sichtbare Partikel auf. Bei der Mikroskopie zeigte sich, dass grosse, dicke Gewebeteile ein genaues Auszählen verunmöglichten. Es wurde nun folgendermassen verfahren:

2 g der entfetteten Probe wurden durch Gaze 14 (Maschenweite 100 μ oder 55 Fäden/cm) gesiebt. Dies lässt sich am besten mit Hilfe eines kleinen Pistills und eines Haarpinsels bewerkstelligen. Der grobe Anteil, welcher das Sieb nicht passierte, holzige, faserige, mit der Lupe gut sichtbare Teilchen, wurde gewogen und betrug 7,9 % des Ausgangsmaterials. Dieser Anteil kann, als nicht zum Kakaokern gehörend, zu den Schalen und Keimen gerechnet werden. Vom feinen Anteil wurden 0,5 g in üblicher Weise aufgeschlossen und nach *Wagenaar* ausge-

zählt. Die Probe war immer noch ziemlich grob und schwierig auszuzählen. 3 Auszählungen gaben Werte von 6,0 ‰, 7,8 ‰, 8,0 ‰. Es dürfte sich also bei dieser Probe um einen Gesamtschalengehalt von ca. 15 ‰ handeln, zusammengesetzt aus ca. 8 ‰ des groben Anteils und ca. 7 ‰ mikroskopisch auszählbarer Schalenpartikel.

Dieses Beispiel wurde genauer ausgeführt, weil solche Fälle in der Praxis öfters vorkommen.

In derselben Weise müssen auch Proben ausgesiebt werden, welche grob vermahlen und deshalb inhomogen sind. Der Rückstand wird in diesem Fall in einem kleinen Metall- oder Achatmörser möglichst fein verrieben und wieder gesiebt. Das wird wiederholt, bis alles das Sieb passiert hat. Die letzten Anteile dürfen nicht vernachlässigt werden, weil gerade diese am meisten Schalentteile enthalten können.

Das gesiebte Pulver wird vor dem Einwägen gründlich gemischt.

3. Mikroskopie

Vergrößerung, Berechnung der Resultate, Erfahrungen mit dem Phasenkontrast-Mikroskop an Hand verschiedener Auszählungen

Es wurde gearbeitet mit dem Zeiss-Winkel Standard Mikroskop bei 80facher Vergrößerung, d.h. Okular 8fach, Objektiv 10fach. Im Messokular befindet sich ein Okular-Netzmikrometer von 1 mm Seitenlänge. Jede Seite ist in 10 Teile zerlegt, so dass die ganze Fläche aus 100 kleinen Quadraten besteht. Dieser mm^2 bedeckt ungefähr 1 Quadrat des Frost'schen Deckgläschens.

Die Grösse des Okular-Netzmikrometers wurde als Berechnungsbasis genau ausgemessen:

Seite des O.N.M. = 0,77 mm

Fläche des O.N.M. = $0,77 \text{ mm} \times 0,77 \text{ mm} = 0,6 \text{ mm}^2$

Fläche des kleinen Quadrats des O.N.M. = $0,006 \text{ mm}^2$.

Diese Fläche von $0,006 \text{ mm}^2$ wird bei der Berechnung als Einheit benützt.

Eine Auszählung gestaltet sich nun folgendermassen:

Ein Tropfen von 10—40 mg, je nach Schalengehalt, wird auf einem gewöhnlichen, möglichst farblosen Objektträger genau ausgewogen und mit dem Deckgläschen nach Frost bedeckt (eingezäzte Seite nach unten). Die Flüssigkeit verteilt sich normalerweise durch das Gewicht des Deckgläschens ohne Pressen gleichmässig. Nun wird bei der schon beschriebenen Vergrößerung mit Phasenkontrast ausgezählt. Das Deckgläschen nach Frost ist in 26×21 Quadrate von 0,1 mm Seitenlänge eingeteilt. Es wird reihenweise, den kurzen Reihen folgend, das ganze Präparat ausgezählt, die einzelnen Reihen im Kopf zusammengezählt und aufnotiert. Die Grösse der Schalenkomplexe wird mit den Quadraten des Okularnetzmikrometers verglichen und ihre Grösse geschätzt. So kann eine Zahl, welche

aus dem normalen Rahmen fällt, nachkontrolliert werden. Man muss sich aber klar sein, dass die Resultate je nach dem Feinheitsgrad der Probe sehr verschieden sein können.

Für die Berechnung wird die Anzahl der gefundenen Quadrätchen zusammengezählt und mit 0,006 multipliziert, so dass man die von den Schalensteinzellen bedeckte Fläche erhält. Es wird dann auf 1 g fettfreie Kakaomasse umgerechnet und das Resultat in Prozenten angegeben.

Beispiel eines Protokolls und dessen Berechnung

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
3	2 ^{1/2}	1	1 ^{1/2}	1 ^{1/2}	1	2	1 ^{1/2}	4 ^{1/2}	1 ^{1/2}	3 ^{1/2}	1	2	3	2	2	2	2	2	2	1 ^{1/2}	2	2	5	1	1 ^{1/2}

In diesen 26 Reihen ist eine Fläche von 53,5 Quadraten mit Schalen-Steinzellen bedeckt. Da 1 Quadrat 0,006 mm² beträgt, ist die Fläche 53,5 × 0,006 = 0,321 mm².

Der Tropfen hatte ein Gewicht von 30 mg, die Berechnung gestaltet sich also folgendermassen beim Normalfall = Einwaage von 0,5 g mit Glycerin auf 5 g ergänzt:

- Die Schalensteinzellen aus 30 mg Glycerin-Aufschwemmung
bedecken 0,321 mm²
- Die Schalensteinzellen aus 1 mg Glycerin-Aufschwemmung
bedecken 0,0107 mm²
- Die Schalensteinzellen aus 1 g Glycerin-Aufschwemmung
bedecken 10,7 mm²
- Die Schalensteinzellen aus 5 g Glycerin-Aufschwemmung
bedecken 53,5 mm²

Da in 5 g Glycerin-Aufschwemmung 0,5 g fettfreie Kakaomasse enthalten sind, bedecken die Schalensteinzellen aus 1 g fettfreier Kakaomasse somit 107 mm². Und weil nach *Wagenaar* die Schalensteinzellen von 1 g fettfreien Kakoschalen eine Fläche von 2100 mm² bedecken, handelt es sich im vorliegenden Fall um einen ungefähren Schalengehalt von 5 %.

Beim angeführten Beispiel handelt es sich um eine fein ausgemahlene homogene Probe, was aus den kleinen Schwankungen in den Resultaten der einzelnen Reihen ersichtlich ist.

Es folgt nun das Protokoll einer inhomogenen Probe, welche von mir und einem Kollegen, der keine grosse Übung hatte, ausgezählt wurde:

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
2 ^{1/2}	1 ^{1/2}	1	3	3 ^{1/2}	3	5	2	4	6	7	5	9	5	5 ^{1/2}	3	5	2	0	2	3 ^{1/2}	1	1	3	1	1 ^{1/2}
3	1 ^{1/4}	1 ^{1/4}	3	3	2	7	2 ^{1/4}	6 ^{1/2}	10	10 ^{1/2}	10	4	4 ^{1/2}	4 ^{1/2}	5	5	1 ^{1/4}	0	1 ^{1/4}	3	1	1 ^{1/2}	1 ^{1/2}	0	0

Aus diesem Protokoll lässt sich zweierlei ableiten. Als Erstes zeigen die grossen Differenzen zwischen den einzelnen Reihenwerten, dass es sich um eine inhomogene Probe handelt, die schwierig auszuzählen ist. Grosse Komplexe sind sehr schwer zu schätzen, da die Steinzellengruppen nicht leicht abzugrenzen sind. Als Zweites sieht man aber, dass trotz dieser Schwierigkeiten die Resultate von 2 verschiedenen Analytikern nicht schlecht übereinstimmen, die erste Auszählung ergibt einen Schalengehalt von 7,8 ‰, die zweite von 8,4 ‰. Von der gleichen Probe wurde ein zweites Präparat von den gleichen Analytikern ausgezählt, die Resultate waren 7,5 ‰ und 7,2 ‰.

Die 6 Auszählungen desselben Analytikers ergaben 7,8 ‰, 5,8 ‰, 6,4 ‰, 5,8 ‰, 7,5 ‰, 7,8 ‰. Eine grössere Genauigkeit wird bei inhomogenen Proben kaum zu erreichen sein.

Es folgen noch einige Beispiele von Proben mit ganz verschiedenen Schalengehalten, welche die Fehlerbreite der einzelnen Auszählungen demonstrieren sollen.

1. Beispiel.

Resultate: 37 ‰, 34 ‰; 31 ‰, 30 ‰, 31 ‰, 28 ‰, 25 ‰.

Diese Probe war sehr fein vermahlen, deshalb war die Auszählung trotz hohen Schalengehaltes relativ einfach.

Es wurden 2 verschiedene Ansätze gemacht und zwar 0,5 g → 30 g, und 0,5 g → 20 g. Die Differenz zwischen den Extremwerten ist ziemlich gross, hingegen ist die Streuung zwischen den übrigen Werten annehmbar. Bei vorsichtiger Auswertung kann ein Schalengehalt von 30 ‰ angenommen werden, was weit über der vom Lebensmittelgesetz gestatteten Norm liegt.

2. Beispiel.

Resultate: 75 ‰, 83 ‰, 82 ‰, 100 ‰, 67 ‰, 78 ‰.

Im Gegensatz zum ersten Beispiel war diese Probe sehr grob vermahlen und deshalb ausserordentlich schwierig auszuzählen.

Es wurden auch 2 verschiedene Aufschlüsse gemacht, beide mit derselben Verdünnung von 0,5 → 30 g. Auch hier sehen wir Extremwerte neben mittleren Werten. Dass die Streuung bei diesem hohen Schalengehalt sehr gross ist, ist ohne weiteres verständlich.

Es darf hier ein Schalengehalt von ca. 75 ‰ angenommen werden, was zu einer Beanstandung führen würde.

3. Beispiel.

Resultate: 1,7 ‰, 2,2 ‰, 2,3 ‰, 2,6 ‰, 2,9 ‰, 2,0 ‰, 2,4 ‰.

Auch hier wurden zwei verschiedene Aufschlüsse gemacht, beide 0,5 → 5 g. Es handelt sich um eine Probe mit normalem niederem Schalengehalt von 2,0—2,5 ‰. Bei diesen Gehalten spielt die Streuung keine grosse Rolle.

4. Beispiel.

Resultate: 3,6 ‰, 4,0 ‰, 3,4 ‰, 4,2 ‰.

Hier handelt es sich um eine Probe, die angeblich 5 ‰ Schalen enthalten soll, die Resultate sind etwas zu niedrig.

5. Beispiel.

Resultate: 6,3 ‰, 5,5 ‰, 5,4 ‰, 6,3 ‰, 7,0 ‰, 7,2 ‰, 7,0 ‰.

Bei dieser Probe liessen sich ausser den Schalensteinzellen ziemlich viel Gewebeteile von Keimen feststellen. Kombiniert mit den vorhandenen ca. 6,5 ‰ Schalen überschreiten die Fremdbestandteile das gestattete Mass, die Probe müsste also beanstandet werden.

4. Mikroskopie der Keime

Der Keimling weist sehr wenig charakteristische Gewebe auf, die sich quantitativ keinesfalls auswerten lassen. Selbst qualitativ sind sie schwer zu charakterisieren.

Am ehesten lässt sich ein Bild des Keimlingsgewebes erhalten durch Gegenüberstellung der nachfolgenden Mikrophotographien, die ich meinem Kollegen, Herrn Furrer, zu verdanken habe.

Bild 1 und 2 zeigen die charakteristischen Schalen-Steinzellen.

Bild 3 und 4 stammen von authentischen Proben von Kakaokernen ohne Schalen und Keime.

Bild 5 und 6 zeigen die Gewebe von Keimen.

Als einziges wirklich charakteristisches Gewebe lassen sich hier die dünnwandigen Zellkomplexe mit parallel verlaufenden Wänden anführen, die sich ganz allgemein in Keimlingsgeweben vorfinden. Beim Vergleich mit dem Kakaokern lässt sich feststellen, dass dort die Zellen viel unregelmässiger angeordnet sind.

Die dunkeln, wie auch die stark lichtbrechenden Zellkomplexe finden sich sowohl beim Keimling wie auch beim Kern.

Lassen sich beim Auszählen verschiedener Präparate immer wieder solche dünnwandigen Gewebekomplexe feststellen, so ist der Verdacht auf das Vorhandensein von Keimlingen begründet und sollte bei der Bewertung des Schalen- und Keimgehaltes berücksichtigt werden.

Typ. Steinzellenverbände von Kakaoschalen

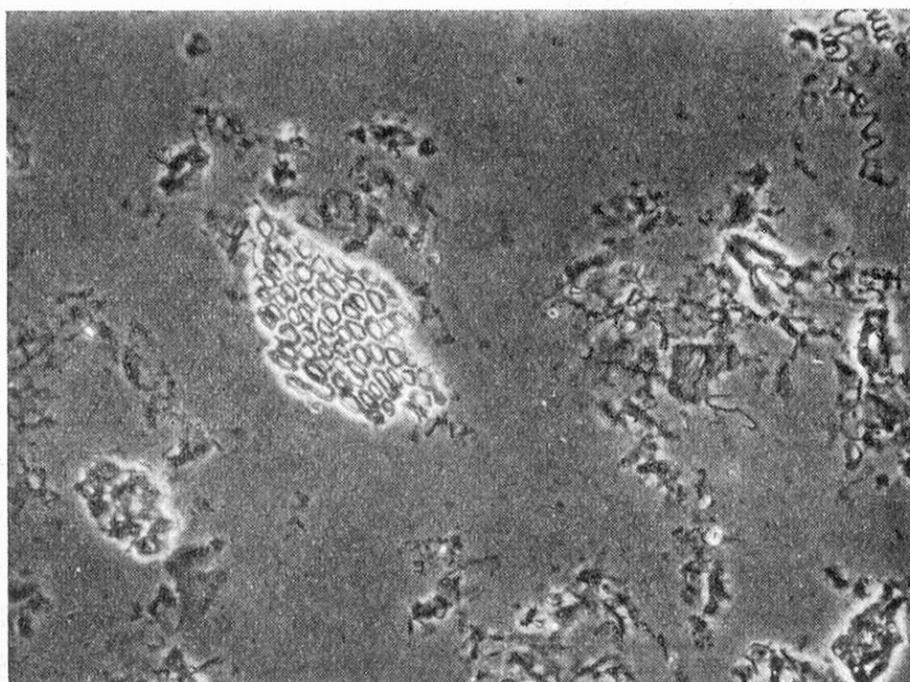


Abb. 1

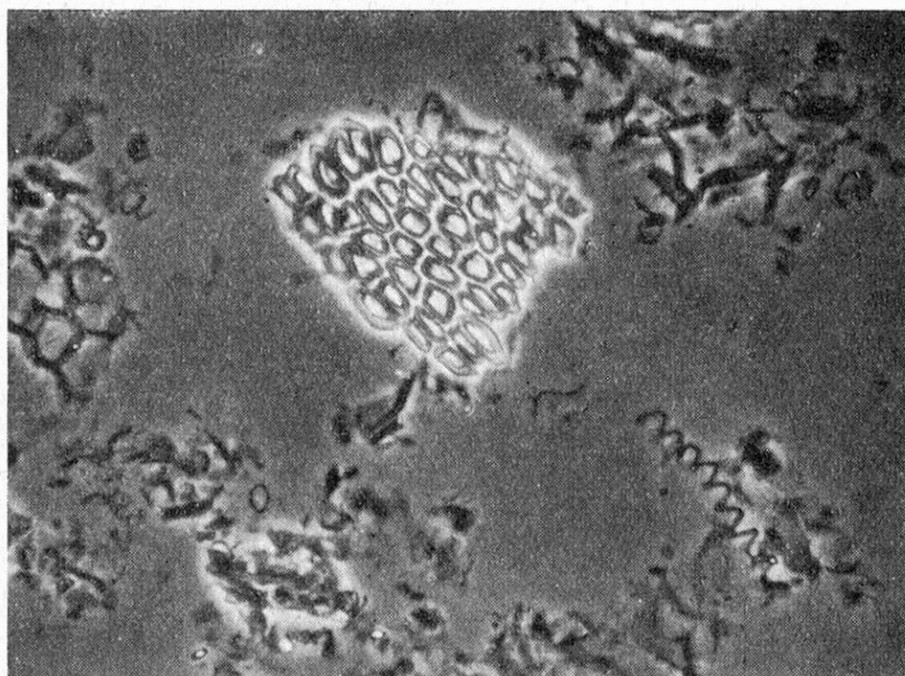


Abb. 2

Gewebe von Kakaokern

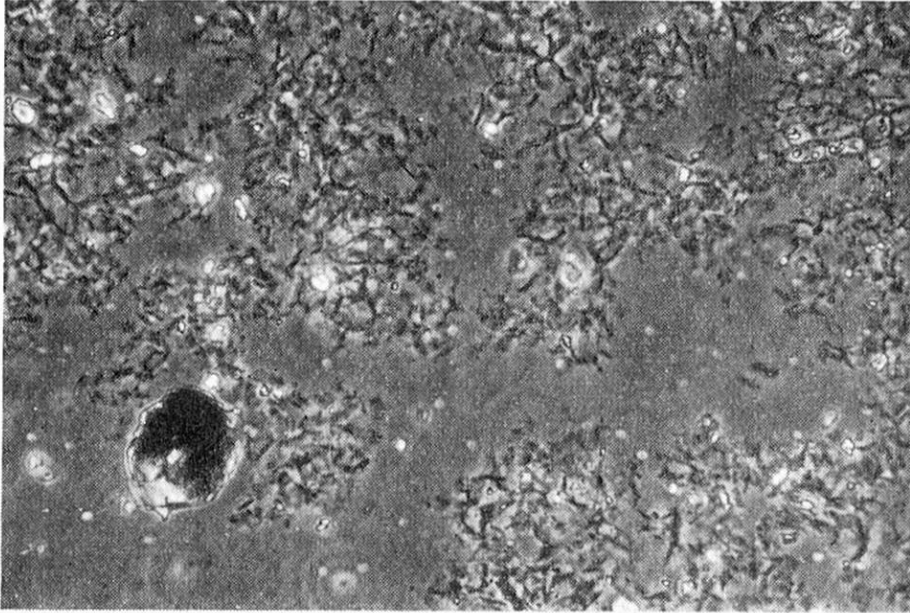


Abb. 3

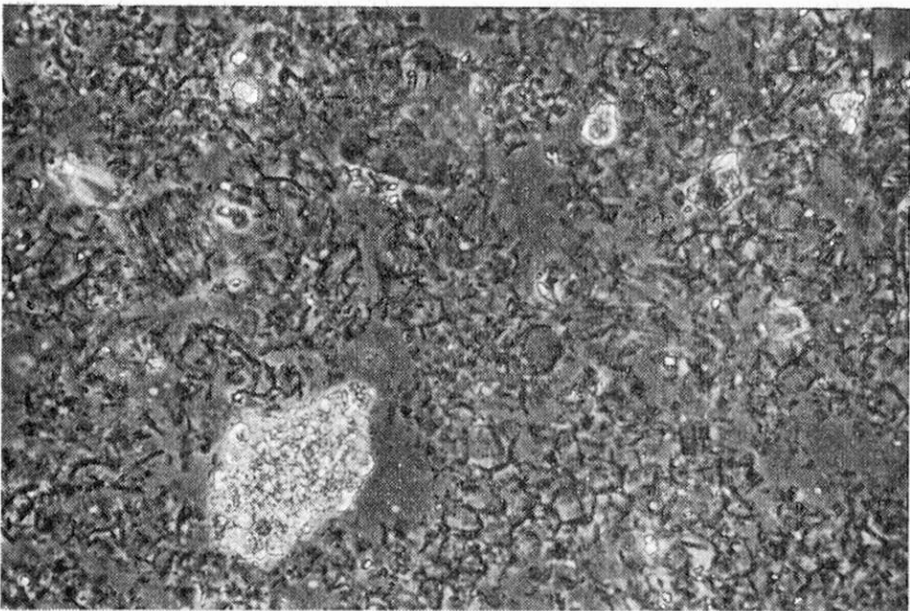


Abb. 4

Gewebe von Kakaokeimling

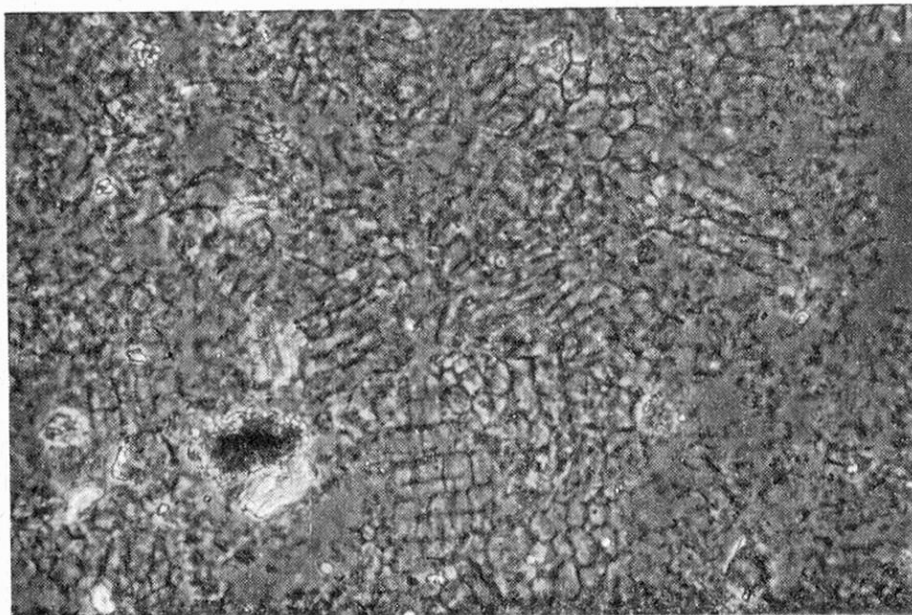


Abb. 5

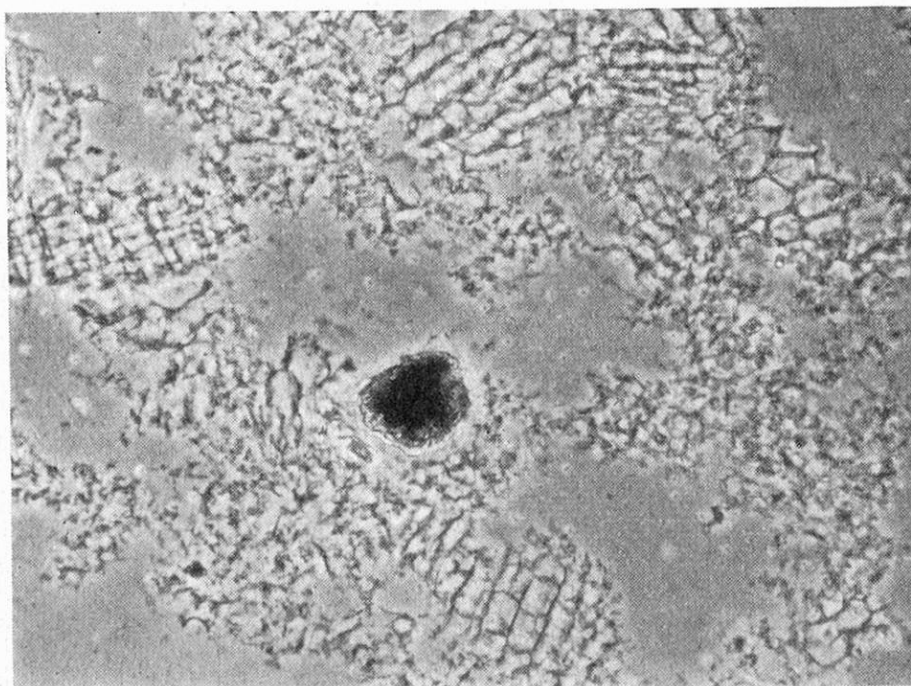


Abb. 6

Zusammenfassung

Es werden verschiedene Abänderungen gegenüber der früheren Schalenbestimmungsmethode in Kakao in der Vorbereitung der Proben, besonders auch bei nicht der Norm entsprechenden Spezialfällen erläutert.

In erster Linie aber sollen die Erfahrungen mit dem Phasenkontrastmikroskop aufgezeigt werden, mit dessen Hilfe viel bessere und durch verschiedene Analytiker reproduzierbare Resultate gewonnen werden können.

Die wenig charakteristischen Gewebe der Keime lassen sich aus den beigefügten Mikrophotographien ersehen.

Résumé

Description d'un mode opératoire amélioré pour la préparation des échantillons de cacao en vue du dosage des coques. On a trouvé que ce dosage donne des résultats meilleurs et reproductibles utilisant un microscope à contraste de phase; on a constaté qu'on peut ainsi bien distinguer les tissus peu caractéristiques des germes.

Summary

Description of an improved procedure for the preparation of cocoa samples for the determination of their husk content. The latter determination is made by using a contrast-phase microscope, the results obtained being much better than those given by an ordinary microscope.

Literatur

- 1) I. Mitteilung: diese Mitt. **44**, 264 (1953).
- 2) Schweiz. Lebensmittelbuch, 4. Auflage S. 242.