

Bericht über die 112. Jahresversammlung der Schweiz. Gesellschaft für Lebensmittel- und Umweltchemie

Muttenz, 31. August – 1. September 2000

Compte rendu de la 112^e Assemblée annuelle de la Société suisse de chimie alimentaire et environnementale

Muttenz, 31 août – 1^{er} septembre 2000

Die Jahresversammlung wurde dieses Jahr an der Fachhochschule beider Basel in Muttenz durchgeführt.

Die Jahresversammlung begann am Donnerstag mit dem «Tag der jungen Wissenschaftler», der zum zweiten Mal durchgeführt wurde und auf ein ansprechendes Interesse stiess (siehe Jahresbericht des Präsidenten). Dieser Anlass ermöglicht interessante Diskussionen eines doch recht breiten und vielschichtigen Fachgebietes zwischen Diplomanden, Doktoranden und Mitgliedern der SGLUC.

Die Mitgliederversammlung wurde am Abend ebenfalls an der Fachhochschule durchgeführt. Der gemeinsame Apéro mit anschliessendem Nachtessen fand ziemlich in der Nähe im Hotel Baslertor statt.

Die wissenschaftliche Tagung mit gut 100 Teilnehmern war dem Thema «Schnellmethoden in der Lebensmittelanalytik» gewidmet. Neben den zwei Hauptvorträgen beleuchteten auch mehrere Kurzvorträge das Thema aus ganz verschiedenen Blickwinkeln.

Im Rahmen der Fachtagung wurde auch der Werder-Preis verliehen. Preisträger war unser wohlbekanntes Mitglied Dr. Konrad Grob aus dem Kantonalen Laboratorium Zürich. Er wurde für seine innovativen Arbeiten im Bereich der Lebensmittelchemie und der Lebensmittelkontrolle geehrt. Die ausführliche Laudatio wurde von Prof. Dr. Renato Amadò vorgetragen. Der Preisträger Dr. Konrad Grob bedankte sich für die Auszeichnung mit einem facettenreichen Vortrag mit Lecker-

bissen aus seiner langjährigen Tätigkeit, ein paar Ausblicken in die Zukunft und gewürzt mit einigen gesellschaftskritischen Einschüben. Der Apéro vor dem Mittagessen wurde im Rahmen der Preisverleihung gestiftet.

Mitgliederversammlung der SGLUC – Assemblée des membres de la SSCAE

Ort: Aula der Fachhochschule beider Basel

Datum/Zeit: Donnerstag 31. August 2000, 18.00 Uhr

Anwesend sind 9 Mitglieder und der Vorstand.

Traktanden – Ordre du jour

1. Jahresbericht des Präsidenten – Rapport du président
- 1.a Ernennung eines Ehrenmitglieds – Nomination d'un membre d'honneur
2. Bericht des Kassiers und der Rechnungsrevisoren – Rapport du caissier et des vérificateurs des comptes
3. Jahresbeiträge – Cotisation annuelle
4. Ort der nächsten Generalversammlung – Lieu de la prochaine assemblée annuelle
5. Verschiedenes – Divers

Der Bericht über die letztjährige Versammlung in Stein am Rhein erschien im Heft 6/1999 der «Mitteilungen» (Mitt. Lebensm. Hyg. 90, 625–630 (1999)).

1. Jahresbericht des Präsidenten – Rapport du président

Le comité de la société a siégé à quatre reprises durant l'année écoulée. Le thème principal de ces réunions était consacré à la préparation de la Journée des Jeunes Chercheurs et de l'Assemblée annuelle de la société avec ses communications scientifiques. Les deux manifestations ont été un succès avec 64 participants inscrits à la journée des jeunes et plus de cent pour l'assemblée scientifique. Lors de la Journée des Jeunes, 29 posters ont été présentés, dont les résumés sont reproduits ci-après. Toutes les présentations se sont déroulées sous forme de session de posters, interrompues par des séances de discussion des posters. Le jury a examiné les posters sous l'aspect de l'intérêt scientifique et de la qualité de la présentation. Quatre prix d'excellence ont été attribués en fin de journée. Les lauréats sont:

Thomas Büeler, Institut für Lebensmittelwissenschaft, ETHZ:

Genetischer Polymorphismus der Milchproteine in Schweizer Ziegenrassen

Raphael Geiger, Institut für Lebensmittelwissenschaft, ETHZ:

Thermoanalytische Untersuchungen beim Heissluftfrösten von Kaffee

Claire Jomini, Ecole d'ingénieurs et d'architectes de Fribourg:

Développement d'une méthode rapide d'identification de chlorophénols et chloroanisoles dans les vins

Katharina Schneider, Institut für Lebensmittelwissenschaft, ETHZ:

Cysteine-containing peptides of beef muscle tissue

La société étudie une home page sur internet. Même si l'efficacité de cette page pour notre société peut être mise en doute, il est nécessaire de manifester sa présence à ce niveau, ceci particulièrement vis-à-vis des milieux étudiants. Le problème principal sera certainement celui d'une mise à jour de cette page.

Swiss Food Net

«Swiss Food Net» (SFN) constitué en 1999 comme réseau de compétence a tenu depuis lors trois réunions fructueuses et répond effectivement à un besoin. Si, dans un premier temps, le secteur agro-alimentaire n'avait pas retenu l'attention de l'Office fédéral de la formation professionnelle et de la technologie (Bundesamt für Berufsausbildung und Technologie, BBT) lors de la mise sur pied d'un réseau national de compétence, le dossier de candidature présenté par SFN a été très bien accueilli. Les discussions avec l'OFFT pour une reconnaissance du secteur agro-alimentaire comme un Centre national de compétences vont donc pouvoir commencer prochainement. Cette reconnaissance permettra de disposer plus facilement de moyens de R & D.

Participation internationale

FECS (Federation of European Chemical Societies)

Unser Altpäsident, Dr. R. Battaglia ist seit einem Jahr Präsident der FECS. Unser Vorstandsmitglied, Prof. R. Amadò, seit Jahren schweizerischer Delegierter in der Food Chemistry Division der FECS, hat an der Jahrestagung des Ausschusses, welche im Anschluss an die EuroFoodChem X Konferenz in Budapest stattgefunden hat, teilgenommen. Der Bericht über diese Tagung wurde in den «Mitteilungen» und in der «Chimia» publiziert.

IUFoST (International Union of Food Science and Technology)

Il s'agit de la représentation suisse (Comité national, Landeskomitee) de l'Académie suisse des sciences naturelles) auprès de l'IUFoST. Les sociétés suivantes y sont représentées: SGE (Schweiz. Gesellschaft für Ernährungsforschung), SGLH (Schweiz. Gesellschaft für Lebensmittelhygiene), die SGLUC, die SGLWT (Schweiz. Gesellschaft für Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie) und den SVIAL (Schweiz. Verband der Ingenieur-Agronomen und der Lebensmittelingenieure). Le Dr. O. Raunhardt, président depuis 1989 a donné cette année sa démission. Il est remplacé à ce poste par votre président. Le comité a tenu son assemblée annuelle le 11 mars 2000 à Zürich.

Ernennung eines Ehrenmitglieds – Nomination d'un membre d'honneur

Auf Antrag des Vorstandes wurde Prof. Dr. Jürg Solms für seine hervorragenden Verdienste um die Gesellschaft einstimmig zum Ehrenmitglied gewählt. Der Präsident überreichte ihm mit grosser Freude die Urkunde. Jürg Solms war während vie-

len Jahren Vorstandsmitglied und von 1984 bis 1988 Präsident der Gesellschaft. Dank ihm konnte auch das Manuskript über die Geschichte der Gesellschaft von Berend Strahlmann zu einem erfolgreichen Abschluss gebracht werden.

Mitgliederbewegungen – Mouvement des membres

Eintritte Einzelmitglieder

Jaccard Guy, 2072 St-Blaise
Kuslys Martinas, 3506 Grosshöchstetten

Austritte Einzelmitglieder

Appelt Gerhard, 6330 Cham
Bucher Paul, 4051 Basel
Hadeball Katrin, D-99869 Gotha-Boilstädt
Haerdi Werner, 1218 Le Grand-Sacconnex
Kohler Peter, 4533 Riedholz
Lehnherr Fred, 3752 Wimmis
Meier Peter, 5000 Aarau
(F) Siegfried Bert, 4800 Zofingen

Austritte Kollektivmitglieder

Orlab SA, 1350 Orbe
Schweizerische Milchproduzenten SMP, 3000 Bern 6
(interne Korrektur, 1 Kollektivmitglied war unter zwei versch. Namen vorhanden)

Todesfälle

(F) Buffle Jean-Philibert, F-74140 Douvaine
(F) Hasler Arthur, 4900 Langenthal
(F) Schüpbach Ernst, 3613 Steffisburg

Neue Freimitglieder (1964)

Brüscheiler Hans, 9000 St. Gallen
Bergner Karl G., D-70378 Stuttgart 50

zum Ehrenmitglied ernannt

Solms Jürg, 8053 Zürich

Mitgliederbestand (in Klammern Zahlen des Vorjahres):

Ehrenmitglieder	4	(3)
Freimitglieder	62	(64)
Einzelmitglieder	253	(261)
Kollektivmitglieder	93	(96)
Total	<u>412</u>	<u>(424)</u>

Mit Freude konnte der Präsident die «Freimitgliedschaftsurkunde» persönlich an Prof. Dr. Karl G. Bergner überreichen.

2. Bericht des Kassiers und der Rechnungsrevisoren –
Rapport du caissier et des réviseurs des comptes

Die vom Kassier, Dr. P. Schmid, vorgelegte Jahresrechnung für 1999 schliesst wie erwartet mit einem Defizit ab. Dies vor allem wegen der Aufwendungen für die Jubiläumsschrift. Der Bericht der Revisoren wurde verlesen und die Rechnung von der Versammlung genehmigt.

Rechnungsrevisoren – réviseurs des comptes

Martin Brunner
Daniel Huber

stellen sich für ein weiteres Jahr zur Verfügung und werden bestätigt.

3. Jahresbeiträge – Cotisations annuelles
Sie bleiben unverändert.

4. Ort der nächsten Jahresversammlung – Lieu de la prochaine assemblée
annuelle

Die nächste Jahrestagung soll im Tessin stattfinden (30.–31. August 2001). Die Tagung wird dem Thema Wein gewidmet sein. Neben der «Chemie» des Weines könnten die neueren Vorschriften betreffend Wein vorgestellt werden. Insbesondere auch im Zusammenhang mit den bilateralen Verträgen mit der EU werden sich auf diesem Gebiet einige Änderungen ergeben.

5. Verschiedenes – Divers

La parole n'est pas demandée et la séance est donc close.

O. Zoller und J.-L. Luisier

Folgende Vorträge der Jahresversammlung werden in diesem Heft veröffentlicht:

Schnellmethoden in der Lebensmittelverarbeitung und im Lebensmittelhandel: Anwendungen und Bedürfnisse (*Reto Battaglia*)

Schnellmethoden in der Lebensmittelanalytik: Möglichkeiten und Grenzen – eine Übersicht (*Reinhard Matissek*)

Pestizid-Screening mit GC/MS: Schnelle Entscheidungsfindung für den Vollzug (*Markus Zehringer*)

Solid phase micro-extraction (SPME) à détection directe, une nouvelle dimension analytique (*Jean-Luc Luisier, Jean-Claude Villettaz, Ramin Azodanlou et Renato Amadò*)

Tag der Jungen Wissenschaftler

Journée des jeunes scientifiques

Ingenieurschule Muttentz, 31. August 2000

Poster

Structural characterization of Aquatic Biopolymers by Capillary Electrophoresis and Fluorescence Correlation Spectroscopy

Monika Hosse, Jamie Lead, Kevin J. Wilkinson and Jacques Buffle, CABE (Analytical and biophysical environmental chemistry), Department of Inorganic, Analytical and Applied Chemistry, University of Geneva, 30, Quai Ernest Ansermet, CH-1211 Geneva 4

Based on their physicochemical nature, their origin, and their concentration in the water column, organic biopolymers (humic substances, polysaccharides and proteins) are expected to play a major role in a majority of physicochemical reactions in aquatic systems.

In order to understand better their behaviour under different physicochemical regimes, the influence of ionic strength and pH was systematically studied by capillary electrophoresis (CE) and fluorescence correlation spectroscopy (FCS).

CE was used to determine the electrophoretic mobilities, which are proportional to the ratio of the charge to hydrodynamic diameter whereas FCS provided information about the diffusion coefficients and hydrodynamic sizes of the molecules. Both the mobilities and sizes of the aquatic biopolymers were in line with theoretical predictions for a polyelectrolyte for variable pH and ionic strength. For example, the IHSS fulvic acid showed a sigmoidal curve for the variation of mobility as a function of pH. Small, but significant decreases in the diffusion coefficients with decreasing pH were observed and could be attributed to the formation of small aggregates. The effect of ionic strength (0–400 mM) was in most cases small or insignificant.

Estimation de la mise en danger par des sites contaminés

Roxane Boudoux et Claude Rohrbasser, Ecole d'ingénieurs et d'architectes de Fribourg, Département de chimie, Pérolles 80, CH-1705 Fribourg; Michäel Bensimon, Geolep, EPFL, CH-1015 Lausanne

Une nouvelle ordonnance sur l'assainissement des sites pollués (OSITES) a été récemment adoptée par le Conseil fédéral. Cette ordonnance règle les modalités d'assainissement des sites susceptibles de causer des atteintes nuisibles à l'environnement. Pour évaluer ce risque de pollution, une procédure basée sur l'analyse des métaux dans un essai de lixiviation sur colonne en laboratoire est recommandée en annexe de l'ordonnance. Ce travail consiste à mettre au point l'essai de lixiviation selon la directive OSITES et de tester l'installation sur des cas réels.

Pour évaluer la fiabilité de la méthode, certains paramètres physico-chimiques comme la reproductibilité, le débit, la charge de la colonne et autres ont été optimisés. Cette procédure est comparée avec la méthode plus ancienne, mais plus facile à mettre en place, décrite dans l'ordonnance sur le traitement des déchets (OTD). L'acquisition des paramètres physico-chimiques (pH, eH, conductivité) est effectuée en ligne à l'aide du programme LabView. Les analyses des éléments en trace sont réalisées par la spectrométrie de masse à haute résolution couplée à un plasma (HR-ICP-MS).

Au vu des résultats obtenus, on peut affirmer que cette méthode apporte une bonne reproductibilité et fiabilité. La comparaison des deux méthodes proposées mène à la conclusion que le test OSITES se rapproche plus des conditions naturelles que le test OTD qui lui se déroule dans des conditions plus agressives.

On line Determination of Trace Metal Ions Using Permeation Liquid Membranes

P. Salaün, N. Parthasarathy, G. Lagger, M. Martin and Jacques Buffle, Chimie Analytique et Biophysicochimie de l'Environnement (CABE), Department of Inorganic, Analytical and Applied Chemistry, University of Geneva, 30, Quai E. Ansermet, CH-1211 Geneva 4

The permeation liquid membrane (PLM) is very well suited for both speciation and preconcentration of trace metal ions in natural waters. It is a simple, selective and non-perturbing technique. PLM is based on uphill transport of metal ions by means of neutral carrier-aided transport through a hydrophobic membrane impregnated with an organic solvent. The flux is diffusion limited from a source solution to a so-called "strip" solution which contains a strong complexant. Speciation is achieved by setting up the permeability criterion π which depends on physical parameters such as carrier concentration or diffusion layer thickness. Depending on the conditions, either free metal ions or labile hydrophilic complexes or even lipophilic complexes can be determined.

Another major advantage for metal analysis is the PLM capability of performing large preconcentrations when using very small volume of strip solution compared to the source solution one. PLM devices have been built with or without coupling sensitive detectors. One of these, a voltammetric microfabricated thin film mercury coated iridium microelectrode array which is placed in the strip solution, will be presented. The microelectrodes are protected with an agarose gel containing C-18 modified particles in order to prevent adsorption of organic solvent leached from the PLM onto the electrode surface. The strip volume is 0.75 μl and the distance between PLM and the microelectrode is about few microns which allows to get fast response time. Measurement of the initial flux from PLM is proportional to the metal species concentration of interest and hence time of measurement can be shortened.

Entwicklung der Einträge und Isotopensignatur von Stickstoff- und Schwefelverbindungen in Umweltarchiven während der letzten 100 Jahre
Ph. Jeker und U. Krähenbühl, Universität Bern; R. Siegwolf und M. Saurer, Paul Scherrer Institut, CH-5232 Villigen

Stabile Isotope in rezenten Pflanzen

Es wurden $\delta^{13}\text{C}$ und $\delta^{15}\text{N}$ Isotopenmessungen in C3 Pflanzen und Moosen in schweizerischen Hochmooren durchgeführt, um die Signatur der stabilen Isotope in Hochmoortorfen besser zu verstehen. Es konnte gezeigt werden, dass die $\delta^{13}\text{C}$ Werte von Moosen (*Sphagnum magellanicum*) höher als diejenigen von C3 Pflanzen (*Oxycoccus quadripetalus*) sind. Die $\delta^{15}\text{N}$ Werte von *Sphagnum magellanicum* weichen um den Faktor zwei von denjenigen von *Oxycoccus quadripetalus* ab. Sowohl das $\delta^{13}\text{C}$ als auch das $\delta^{15}\text{N}$ Signal des Mooses liegen näher bei den δ Werten der obersten Torfschicht als die Werte der C3 Pflanzen. Nun muss gezeigt werden, welche Pflanzen in Hochmooren einen dominierenden Anteil haben.

Schwefelgehalte in Hochmooren

Nachdem eine Grundlagenmessserie gezeigt hat, dass oxidierte Lösungen eine gute Schwefelwiederfindung gegenüber einem Sulfatstandard aufweisen, konnte davon ausgegangen werden, dass dies auch bei einem Aufschluss von organischem Material der Fall sein werde. Getrocknetes und gemahltes organisches Material aus einem Torfbohrkern vom Düdinger Moos (neben der Autobahn A12) wurde mit dem oben beschriebenen Verfahren aufgeschlossen und anschliessend in den verdünnten Lösungen der Schwefelgehalt mit ICP-OES gemessen.

Obwohl noch keine Datierung vorliegt, kann bei einer angenommenen Wachstumsrate von 0,3–0,5 cm/Jahr aus dem Gehaltsverlauf entnommen werden, dass die Schwefelmissionen in den 1950–70er Jahren ein Maximum erreichten. Der Verlauf der Gehalte korreliert mit dem Verlauf der Schwefeldioxidmissionen in der Schweiz.

Es sind des weiteren Schwefelisotopenmessungen geplant, die auch Informationen enthalten können, ob der Bau und die Inbetriebnahme der Autobahn A12 im benachbarten Moor beobachtet werden kann, obwohl der Verkehr einen geringen Anteil der Schwefeldioxidemissionen ausmacht.

Nachweisoptimierung von *Campylobacter jejuni* aus Oberflächenwasserproben

Eliane Wiesli, Jürg Stebler und Gustav Peter, Departement Chemie, Abteilung Biochemical Engineering und (Bio-)Analytische Chemie, Zürcher Hochschule Winterthur, Winthertur

Eine der häufigsten bakteriellen Lebensmittelvergiftungen wird durch den Erreger *Campylobacter jejuni* verursacht. Als primärer Sitz einer Infektion wird der Dünndarm angesehen, wobei aber auch der Dickdarm oft befallen wird. Pathogenetisch beruht die *Campylobacter*-Infektion auf einer Invasion der Darmwände, wie sie auch bei den Salmonellen zu beobachten ist. Die *Campylobacter*-Infektionen nehmen jährlich zu. Im Jahr 1995 hat nach Angaben des BAG gesamtschweizerisch die Anzahl Meldungen über *Campylobacter*-Infektionen schon diejenigen der Salmonellen übertraffen. Man vermutet, dass die *Campylobacter*, gegenüber den Salmonellen, in Gewässern überhand nehmen. Um diese Beobachtung zu verifizieren und genauer zu untersuchen muss es möglich sein, *Campylobacter* aus Oberflächengewässern zu isolieren und diese mit der Anzahl isolierter Salmonellen aus Oberflächengewässern zu vergleichen.

Campylobacter jejuni ist ein gramnegatives, nicht sporenbildendes, spirillisch gekrümmtes Stäbchen, das in älteren Kulturen zu längeren, spiraligen Fäden auswächst. Es benötigt mikroaerophile Bedingungen, um zu leben (Gasgemisch von 3–15% Sauerstoff, und 3–5% Kohlendioxid). Genau diese Eigenschaft macht die Kultivierung des *Campylobacter jejuni* aufwendig, zeitraubend und teuer.

Die Isolation von thermophilen *Campylobacter* kann nach der im Lebensmittelbuch Kapitel 56 beschriebenen Methode durchgeführt werden. Der grösste Nachteil dieser Methode ist die unverzichtbare Verwendung einer Anlage, die mikroaerophile Bedingungen schafft (Begasungsstation und Anaerobtöpfe). Es sollte daher versucht werden, eine Methode zu entwickeln, die kostengünstiger, schneller und einfacher ist.

Zur Abschätzung des Potentials der neuentwickelten Methode wurden 50 Proben untersucht. Der Unterschied der neuentwickelten Methode im Vergleich zur Methode nach Lebensmittelbuch ist, dass dem Anreicherungsmedium eine geringe Menge Agar zugegeben und unter aeroben Bedingungen kultiviert wird. Es konnte eine Verbesserung der Sensitivität für die Anreicherung von *Campylobacter jejuni* um 325% erreicht werden.

Bestimmung der Magnesiumabsorption mittels stabiler Magnesiumisotope

Torsten Bohn, Thomas Walczyk, Lena Davidsson und Richard F. Hurrell, Institut für Lebensmittelwissenschaft, Labor für Humanernährung, ETH-Zürich, Seestrasse 72, CH-8803 Rüschlikon

Magnesium (Mg) ist ein für den Menschen essentielles Element. Im menschlichen Organismus wird es u.a. für den Knochenaufbau und für den Hormon- und Transmitterstoffwechsel benötigt. Beim Menschen sind über 300 Enzyme bekannt, die durch Mg aktiviert werden. In Bezug auf gesundheitliche Aspekte werden insbesondere die Bedeutung von Mg für die Osteoporoseprävention sowie der Zusammenhang mit Herz-Kreislaufkrankungen und Diabetes mellitus in letzter Zeit verstärkt diskutiert.

Wenig ist bekannt über die Faktoren, die die Magnesiumabsorption beim Menschen beeinflussen. Dies liegt nicht zuletzt an einem Mangel an geeigneten, d.h. hinreichend präzisen, richtigen, einfach durchzuführenden und minimal invasiven Methoden zur Bestimmung der Magnesiumabsorption.

Eine häufig angewendete Methode ist die sogenannte «chemical balance Technik», die Mg-Absorption wird als Differenz zwischen verzehrter Mg-Menge und dem fäkal ausgeschiedenen Mg verstanden. Eine Steigerung der Genauigkeit und Richtigkeit der Absorptionsbestimmung ist durch den Einsatz stabiler Isotope möglich: Hierzu wird eine Testmahlzeit mit stabilen Mg-Isotopen angereichert und die Absorption als Differenz zwischen gegebener und fäkal ausgeschiedener Isotopendosis verstanden. In der Praxis wird hierzu der Stuhl über mehrere Tage gesammelt, um die nichtabsorbierte Fraktion der Isotopendosis quantitativ zu erhalten. Diese kann nach entsprechender Abtrennung des Mg von der Matrix massenspektrometrisch bestimmt werden. Eine ergänzende Möglichkeit besteht darin, ein minimal absorbierbares Element zu verabreichen und – bei unvollständiger Stuhlsammlung – anhand der ausgeschiedenen Menge desselben auf die nicht absorbierte Isotopendosis zu extrapolieren. Des Weiteren kann aus den geänderten Isotopenverhältnissen im Urin die Mg-Absorption bestimmt werden.

In der durchgeführten Studie wurde 10 Probanden 50 mg ^{25}Mg oral mit der Testmahlzeit und 20 mg ^{26}Mg intravenös verabreicht. Zusätzlich wurden 5 mg Yb oral als quantitativer Stuhlmarker gegeben. Im Anschluss wurde über einen Zeitraum von 6 d der gesamte Stuhl und Urin gesammelt. Aus Aliquoten des Stuhls wurde nach Gefriertrocknung ein 6-Tages- sowie ein 3-Stuhl-Pool erstellt. Diese wurden mineralisiert und das Mg mittels Ionenaustauschchromatographie separiert. Die Bestimmung der Mg-Isotopenverhältnisse in den Stuhlproben erfolgte mit positiver Thermionen-Massenspektrometrie (PTI-MS) und der nichtabsorbierte bzw. absorbierte Anteil der Isotopendosis wurde nach den Prinzipien der Isotopenverdünnungsanalyse bestimmt.

Die so erhaltenen Absorptionswerte für den 6-Tages-Pool und den 3-Stuhl-Pool (nach Extrapolation über die ausgeschiedene Yb Menge) werden miteinander verglichen. Zusätzlich wird die Möglichkeit und die Problematik der Bestimmung der Mg-Absorption über die Isotopenanreicherung im Urin der Probanden diskutiert.

Développement d'une méthode rapide d'identification de chlorophénols et chloroanisoles dans les vins

Claire Jomini et Claude Rohrbasser, Ecole d'ingénieurs et d'architectes de Fribourg, Département de chimie, Pérolles 80, CH-1705 Fribourg

La qualité des vins peut être altérée par des «mauvais goûts». Des accidents de type «goût de bouchon» sont parfois constatés et ont été attribués à la présence de composés organochlorés. Divers constituants de cette famille chimique sont mis en évidence dans les bouchons mais également dans les matériaux présents dans les caves.

Plusieurs centaines de constituants ont été identifiés et le développement de méthodes analytiques de plus en plus performantes permet d'allonger continuellement la liste. Ces molécules ont la particularité d'être détectées olfactivement à de très faibles concentrations (~5 ng/l).

Ce travail a pour but de détecter, dans la phase vapeur (phase située entre le liquide et le bouchon), la présence de quatre composés, puis de développer une méthode rapide d'analyse sans ouverture préalable de la bouteille. Les analyses sont effectuées par des méthodes chromatographiques en phase gazeuse couplées à des techniques comme la SPME, l'injecteur APS et une détection ECD, FID ou encore MS. Les détecteurs FID et MS, ne présentent pas toujours la sensibilité nécessaire. Ce n'est qu'avec l'utilisation en série de la SPME, du GC et de l'ECD (détection allant jusqu'au ppt) que nous avons réussi à détecter les quatre composés dans des vins présentant le «goût de bouchon».

Cette méthode est rapide, simple à utiliser et ne nécessite pas un appareillage compliqué. De plus, aucun traitement préalable de l'échantillon n'est nécessaire.

Composés analysés: 2,4-dichlorophénol, 2,3,4-trichlorophénol, 2,4,6-trichloroanisole, pentachloroanisole.

Expertise, analyse et contrôle des bouchons: Analyse de traces par GC-MS

Pascal Jacquemettaz et Urban Frey, Ecole d'ingénieurs du Valais, Département de chimie, Route du Rawyl 47, CH-1950 Sion

Les expertises faites sur les bouchons visent à leur assurer, par divers contrôles, une qualité préalablement définie. Il s'agit de contrôles tant physiques que chimiques, comme la vérification de la qualité des traitements effectués, le contrôle de l'absence de résidus de traitement et surtout de composés «dangereux» pour le vin. Parmi ces derniers, il faut citer en particulier les chloroanisoles dont le représentant

le plus connu, le 2,4,6-trichloroanisole (TCA), est la molécule responsable du goût de moisi dit de bouchon, il faut aussi parler des précurseurs des chloroanisoles, les chlorophénols.

La détection de ces molécules fait appel à des méthodes analytiques très sensibles et sélectives tel que la GC-MS (SIS), précédée par une méthode d'extraction et de concentration rapide de type SPME, puisque la simple présence de sous-traces de ces composés constitue un danger pour le goût du vin: le seuil olfactif de détection du TCA est de 5 ng/l dans du vin blanc de type chasselas. La limite de détection du TCA par la méthode mise au point est de 1 ng/l, de plus la GC-MS (SIS) permet la reconnaissance de la molécule par analyse du pourcentage isotopique des masses 195, 196 et 197. Les analyses effectuées visent à montrer l'absence ou la présence de TCA et autres chloroanisoles ou chlorophénols, sur les bouchons neufs avant leur utilisation, c'est à dire avant que le vin puissent être contaminé; elles permettent de ce fait à l'industrie viticole de limiter les risques de faux goûts donnés au vin par l'entremise du bouchon.

A New Approach for the Evaluation of the Quality of Fruits

Ramin Azodanlou and Renato Amadò, Swiss Federal Institute of Technology, Institute of Food Science, ETH-Zentrum, CH-8092 Zurich; Charly Darbellay, Swiss Federal Research Station for Plant Production, Centre des Fougères, CH-1964 Conthey; Jean-Luc Luisier and Jean-Claude Villettaz, School of Engineering Valais (EIV), Department of Food- & Biotechnology, CH-1950 Sion

Several varieties of strawberries, tomatoes and apricots originating from different regions and harvested at three different seasons were analyzed by descriptive panel analysis, consumer tests and instrumental devices. Interpretation of the results consisted in analyzing the relationship between sensory data and instrumental measurements.

While comparing different fruit samples, the sensory panel pointed out significant ($P \leq 0.05$) quality attributes such as aroma and sweetness. Furthermore, a good correlation has been found between instrumental measurements ($^{\circ}$ Brix and total volatiles) and consumer's appreciation in classifying the fruits on a 1 to 9 scale. Such a classification has also allowed to identify the main aromatic compounds responsible for the quality of each type of fruits by SPME/GC-FID.

Furthermore a preliminary model predicting the quality of the fruits based only on instrumental measurement was suggested. This model allows to compare the samples and to sort them into three different categories (bad – medium – good) at a level of significance of $P \leq 0.05$.

Thermoanalytische Untersuchungen beim Heissluftrösten von Kaffee

Raphael Geiger, Rainer Perren und Felix Escher, Institut für Lebensmittelwissenschaft, ETH-Zentrum, CH-8092 Zürich

Das Heissluftrösten von grünem Kaffee stellt einen traditionellen Prozess der Lebensmittelherstellung dar. Durch das Rösten erhält die Kaffeebohne das gewünschte Aroma und die dunkle Farbe und erfährt gleichzeitig ausgeprägte Veränderungen der Mikrostruktur, was sich insbesondere in einer starken Volumenzunahme manifestiert. Diese Volumenzunahme ist das Resultat aus dem Zusammenwirken von expandierenden Kräften, verursacht durch die Bildung grosser Mengen an Röstgasen und einem damit verbundenen starken Druckanstieg, und von strukturerhaltenden Kräften in den für die Kaffeebohne typischen dicken und massiven Zellwänden. Damit eine Volumenzunahme ohne vollständige Zerstörung des Gewebes möglich ist, muss das Zellwandmaterial aus dem starren in den plastischen Zustand übergehen, was vermutlich den Zustandsänderungen von Zellwandpolysacchariden durch Glasübergang gleichkommt. Da die Annahme besteht, dass neben dem Ausmass der Volumenzunahme auch die Bedingungen, unter welchen diese Zustandsänderungen erfolgen, das Entölungs- und Entgasungsverhalten sowie die Aromaretention von Röstkaffee während der Lagerung entscheidend beeinflussen, wurden Zustandsdiagramme von Kaffeeproben als Glasübergangstemperatur in Funktion des Wassergehaltes mit thermoanalytischen Methoden bestimmt. Dabei war die DMTA (differential mechanical thermal analysis) der DSC (differential scanning calorimetry) überlegen. Die über den Speichermodul E' der Proben ermittelten Strukturveränderungen zeigten im Temperaturbereich von 100–200°C die erwartete Abhängigkeit vom Wassergehalt, während dieser Zusammenhang bei >200°C nicht mehr besteht, und bei <100°C wegen zu geringem Druckaufbau irrelevant ist. Die Zustandsdiagramme können als eine der Grundlagen zur Optimierung des Röstprozesses dienen.

Aromaretention und -freisetzung in stärkehaltigen Lebensmittelsystemen

Cornelia Heinemann, Béatrice Conde-Petit und Felix Escher, Institut für Lebensmittelwissenschaft, ETH-Zentrum, CH-8092 Zürich

Stärke besteht aus linearer Amylose und verzweigtem Amylopektin. Die Amylose bildet mit gewissen Aromastoffen helikale Einschlussverbindungen oder Stärkekomplexe. In stärkehaltigen Lebensmitteln wird die Aromaretention und -freisetzung durch Komplexbildungsvorgänge der Stärke mit diesen Aromastoffen beeinflusst, womit Stärke neben Fett zum potentiellen Aromaträger wird. Die Aromafreisetzung aus Stärkedispersionen kann mit dynamischem Headspace, die Aromaretention in der Stärke mit amperometrischer Iodtitration und X-Ray analysiert werden. Das Ausmass der Freisetzung eines Aromastoffes aus einer Stärkedispersion ist abhängig von dessen Komplexbildungsfähigkeit mit Amylose, dessen

Flüchtigkeit, der Dispersionsviskosität und dem Amylosegehalt der Stärke. Amylopektinreiche Kartoffelstärkedispersionen weisen eine höhere Viskosität, jedoch eine geringere Aromaretention auf als amylosehaltige Kartoffelstärkedispersionen.

Furan Fatty Acid Photooxidative Degradation Products in Different Dried Herbs and Vegetables

Isabelle A. Sigrist, Giuseppe G.G. Manzardo and Renato Amadò, Institute of Food Science, Swiss Federal Institute of Technology, ETH-Zentrum, CH-8092 Zurich

Furan fatty acids occur widely in different plants, vegetable oils, seafood and mammals. Guth and Grosch have shown that furan fatty acids act as precursors of 3-methyl-2,4-nonanedione (MND) (1). MND is an important flavour compound of green tea (2), dry parsley (3) and dry spinach (4). Recently, furan fatty acids have been identified as precursors of the flavour compounds 2,3-butandione, 2,3-octandione (5), 3,4-dimethyl-5-pentyliden-2(5H)-furanone (bovolide) and 3,4-dimethyl-5-pentyl-2(5H)-furanone (dihydrobovolide) (5, 6). Bovolides have been identified in several foodstuffs including dried green parts of plants such as green tea, lamb's lettuce, garden cress and woodruff (6). In this work, the influence of light exposure on the formation of volatile photooxidative degradation products of furan fatty acids in different dried plant material was investigated. The flavour fraction was isolated by simultaneous distillation extraction and analysed by GC-MS. The amount of these flavour compounds was determined in relation to the exposure time as peak area ratio to an internal standard. To our knowledge, the occurrence of the flavour compounds in tarragon, dill, basil, chervil, chives, leek, savory and onion is reported here for the first time. An increase of the flavour compounds could be observed, but the herbs and vegetables have been shown to be differently susceptible to light exposure. A potential relevance of the compounds on the flavour or off-flavour of the herbs and vegetables is subject of further investigations.

- 1 Guth, H. and Grosch, W.: Detection of furanoid fatty acids in soya-bean oil – cause for the light-induced off-flavour. *Fat Sci. Technol.* **93**, 249–255 (1991).
- 2 Guth, H. and Grosch, W.: Furanoid fatty acids as precursors of a key aroma compound of green tea. In: Schreier, P. and Winterhalter, P. (eds.), *Progress in flavour precursor studies*. Allured Publishing Corporation 401–407 (1993).
- 3 Masanetz, C. and Grosch, W.: Hay-like off-flavour of dry parsley. *Z. Lebensm.-Unters.-Forsch. A* **206**, 114–120 (1998).
- 4 Masanetz, C., Guth, H. and Grosch, W.: Fishy and hay-like off-flavours of dry spinach. *Z. Lebensm.-Unters.-Forsch. A* **206**, 108–113 (1998).
- 5 Pompizzi, R.: Furanfettsäuren als Vorläufer von Aromastoffen. Dissertation Nr. 12129. ETH Zürich 1999.
- 6 Pompizzi, R., Lamberti, M., Oechslin, R., Manzardo, G.G.G. and Amadò, R.: Identification of bovolides as degradation products of furan fatty acids. In: Amadò, R. and Battaglia, R. (eds.), *Proc. EURO FOOD CHEM IX*, Interlaken, 472–477 (1997).

Mesure du dégagement gazeux du fromage à raclette

Vincent Gremion et Romolo Ciccirelli, Ecole d'ingénieurs du Valais, Route du Rawyl 47, CH-1950 Sion

Les fromages à raclettes sont emballés avec des films souples possédant des propriétés de perméabilité aux gaz différentes. Les composés gazeux dégagés par le fromage s'accumulent à l'intérieur de l'emballage et lors de l'ouverture de ce dernier, de fortes odeurs assez désagréables (hypothèse: l'ammoniac) s'en échappe. L'objectif du travail est de mesurer le dégagement gazeux (ammoniac, gaz carbonique, vapeur d'eau, oxygène) d'un fromage à raclette à l'aide d'une installation de captage des gaz. Les résultats obtenus permettront de déterminer le cahier des charges pour un emballage idéal.

Les résultats montrent qu'il y a une relation entre la perte en eau et le dégagement d'ammoniac, la vapeur d'eau jouant le rôle de transporteur d'ammoniac. Globalement, les phénomènes suivants interviennent lors du dégagement d'ammoniac: l'apport d'oxygène permet aux micro-organismes protéolytiques de produire l'ammoniac et le gaz carbonique; la composition (teneur en eau, acides gras) et l'environnement (présence de gaz carbonique qui diminue le pH) de la morge lui permettent de retenir une certaine quantité d'ammoniac; l'ammoniac non retenu se dégage ou pénètre à l'intérieur de la meule, d'où il ne peut plus sortir, par rétrodiffusion selon l'humidité relative de l'air (différence de pression partielle de la vapeur d'eau); le gradient de concentration de l'ammoniac dans la meule est influencé par la présence d'un emballage qui retient plus ou moins bien la vapeur d'eau.

Il est également montré que les mauvaises odeurs dégagées ne sont pas le fait de l'accumulation de l'ammoniac comme pressenti, mais d'acides volatils soufrés ou de composés volatils tel que par exemple l'acide butyrique.

Qualität geschmierter Käse

Anna Strasser, Markus Willmann, Manuel Lanz und Corinne Gantenbein-Demarchi, Hochschule Wädenswil, Grüntal, Postfach 335, CH-8820 Wädenswil; Hans Peter Bachmann, Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Liebefeld, CH-3003 Bern

Das Auftreten von klebriger Schmiere führt zu Qualitätseinbussen und Mehraufwand bei der Produktion geschmierter Käse. Trotz intensiver Untersuchungen, in denen neben chemischen und physikalischen Parametern auch der Einfluss unerwünschter Mikroorganismen auf der Käsoberfläche analysiert wurden, lieferten die Ergebnisse bis jetzt keine konkreten Hinweise zur Lösung des Problems.

Das Ziel der vorliegenden Arbeiten lag darin, den Einfluss von Starterkulturen gesunder Käsoberflächen auf die Klebrigkeit zu untersuchen. Dabei wurden in einer ersten Phase aus verschiedenen, nichtklebrigen Halbhartkäsen 130 Mikroorganismen isoliert und grobidentifiziert. Aus diesen Isolaten wurden fünf Mikro-

organismen-Cocktails zusammengestellt: Gramnegative Isolate (Moraxella- und Pseudomonaden-Arten), grampositive Isolate (Coryneforme-, Arthrobacter-, Mikrokokken-, Brevibacterium-Arten), Lactobacillen-Arten, Hefen (nicht weiter bestimmt) und Schimmelpilze (Scopularopsis-, Phialophora- und Geotrichum-Arten).

Mit den ausgewählten Cocktails wurden in wöchigem Rhythmus klebrige Käseproben (Raclette und Tilsiter) nach dem Waschen besprüht. Anschliessend wurde die Klebrigkeit der Käseoberfläche mit dem Textur Analyser (Stable Micro Systems, Typ TA-XT2) nach einem bzw. nach sieben Tagen Lagerung bei +11°C und 95 % rel. Luftfeuchtigkeit gemessen. Nach einer Gesamtlagerung von fünf Wochen wurden die aufgesprühten Keimgruppen auf der Käseoberfläche bestimmt.

Die Ergebnisse zeigten bei den beiden Cocktails aus grampositiven bzw. gramnegativen Bakterienisolaten eine Verbesserung der Klebrigkeit im Vergleich zu unbehandelten Proben. Die haptische und optische Beurteilung der Proben bestätigten diese Entwicklung. Optisch war vor allem nach jeweils siebentägiger Kühlungslagerung eine homogenere Entwicklung eines weissen Pilzrasens («Milchsimmel») auf der Oberfläche zu beobachten.

Ein Problem bei den Untersuchungen bestand in der Messung der Klebrigkeit. Die verwendete Messmethode zeigte einerseits sehr gute Übereinstimmung mit der an der FAM entwickelten Federwaagen-Methode, bei der mit definiertem Gewicht ein Stempel aufgedrückt und anschliessend die Kraft gemessen wird, bis der Stempel sich von der klebrigen Schmiere löst. Andererseits wurden stark abweichende Werte in der Klebrigkeit auf der Käseoberfläche innerhalb einer Probe festgestellt. Generell weist die Järbseite im Vergleich zur Flachseite erhöhte Klebrigkeit auf, wobei auch innerhalb beider Bereiche grosse Unterschiede auftreten können.

Diese Erkenntnisse lassen den Schluss zu, dass einerseits versucht werden muss, die Ursachen bei der Entstehung von klebriger Schmiere zu erkennen. Andererseits muss ein geeignetes Messinstrument zur objektiven Erfassung der Klebrigkeit entwickelt werden, das auch dem Praktiker einfach und schnell Auskunft zum Qualitätszustand der Käseprobe gibt.

Sweet-sour Taste Interactions in Polyol Based Hard Boiled Candies

Barbara Wunderli, Denise Lüthi and Felix Escher, Institute of Food Science, Swiss Federal Institute of Technology, ETH-Zentrum, CH-8092 Zurich

Sweet and sour sensations present important quality factors in fruity hard boiled candies. In sugar-free candies based on polyols, dosage of additional sweeteners and of food grade acids need to be balanced carefully, particularly in view of the fact that sensory interactions occur in the perception of acid and sweet taste. In this project, hard boiled candies were prepared of isomalt and varying concentrations of Acesulfam K and citric acid, respectively, and their influence on sweet and sour perception investigated. A panel of 17 trained persons (6 male, 11 female) participated in

the sensory tests which were carried out in a standard sensory room. Difference threshold values of samples at different acid and/or sweetener concentrations were determined by using the paired comparison method. Difference threshold increased with increasing concentrations of Acesulfam K according to Weber's psychophysical law, while this relationship was not found for citric acid. As expected, depression of sweetness with the addition of citric acid, and of sourness with the addition of Acesulfam K was observed. The extent of these taste interactions in candies differs from those in solutions, most probably due to the candy matrix and its influence on the rate of release of the various components into the mouth cavity.

Aspartam in stichfestem Joghurt

Patricia Graf-Spahr und Corinne Gantenbein-Demarchi, Hochschule Wädenswil, Grüntal, Postfach 335, CH-8820 Wädenswil; Heinrich Glättli, Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Liebefeld, CH-3003 Bern

APM, ein künstlicher Süsstoff, ist ein Dipeptidester der beiden Aminosäuren L-Asparaginsäure und L-Phenylalanin. Der Süsstoff besitzt etwa die 200fache Süßkraft von Zucker und wird unter dem Handelsnamen NutraSweet vertrieben. Die optimale Stabilität von APM liegt bei pH 4,2 und 20°C. Der pH-Wert im Joghurt liegt in einem Bereich zwischen 3,9 und 4,6. APM ist in einem gerührten Joghurt infolge des tiefen pH-Werts und der Lagerungstemperatur stabil. In stichfestem Joghurt wird das APM jedoch der erwärmten Milch vor der Gärung zugesetzt. Dabei wirkt sich einerseits der pH-Wert der Milch (6,8), andererseits die Gärtemperatur von 38° bis 42° C während mindestens drei Stunden ungünstig auf die Stabilität des APMs aus. Voruntersuchungen zeigten, dass APM hauptsächlich während der Gärung abgebaut wird. Ob es sich dabei um autolytische Zersetzung oder mikrobielle Verwertung des APMs durch die Starterkulturen handelt, war Gegenstand der Untersuchungen. In einer ersten Versuchsphase wurde in künstlich gesüßten Milchsäureprodukten, die mit Reinkulturen von Lactobacillen- bzw. Lactokokken-Isolaten hergestellt wurden, sensorisch die Restsüsse ermittelt. Dabei zeigte sich, dass APM unterschiedlich stark abgebaut wird.

Die quantitative Erfassung der APM-Konzentration im Laufe der Milchsäuregärung bei Einsatz handelsüblicher Starterkulturen bestätigte den unterschiedlich starken Abbau des Süsstoffs durch Milchsäurebakterien. Die Screening-Tests zeigten, dass alle getesteten Starterkulturen APM abbauen, jedoch mit unterschiedlicher Aktivität. Der Abbau findet hauptsächlich während der Gärung statt. Die Restkonzentration des APMs variiert je nach Kultur nach sechsständiger Bebrütung zwischen minimal 24% und maximal 75% der Anfangskonzentration (0,04%). Im Laufe der 16tägigen Kühllagerung der Joghurtproben nimmt die APM-Konzentration durchschnittlich um weitere 7,8% ab (min. 2%, max. 27%).

Bei der Joghurtfabrikation sind vor allem die Streptokokken, die sich in der Regel schneller entwickeln, für die Säuerungsaktivität verantwortlich, während die

Lactobacillen für die Geschmacks- und Aromaentwicklung verantwortlich sind. Die eigenen Untersuchungen bestätigten die Dominanz der Streptokokken nach der sechsstündigen Fermentation, die pH-Werte variieren meist zwischen 4 und 4,5. Die APM-Konzentrationen deuten darauf hin, dass der Abbau des Süsstoffs hauptsächlich von der Entwicklung der Starterkultur und weniger vom pH-Wert abhängt. Unabhängig vom pH-Wert kann bei verstärkter Vermehrung der Lactobacillen ein erhöhter APM-Abbau festgestellt werden, während eine Verzögerung der Lactobacillentwicklung höhere APM-Restkonzentration ergibt.

Für die sensorischen Untersuchungen wurden Starterkulturen ausgewählt, bei denen die Restkonzentration des zugesetzten AMPs über 60% der Anfangskonzentration lag. Generell ergaben bei den Konsumententests alle getesteten Proben eine grosse Akzeptanz von stichfesten Joghurt mit Aspartamzusatz.

Die Untersuchungen zeigten, dass bei der Herstellung stichfester, mit Aspartam gesüsster Joghurts mit einem Verlust des zugesetzten APM gerechnet werden muss. Durch Einsatz geeigneter Starterkulturen kann dieser Verlust jedoch möglichst gering gehalten werden.

Optimierung der traditionellen Cassavafermentation in Westafrika

Pierre Coulin und Zdenko Puhán, Institut für Lebensmittelwissenschaft, ETH-Zentrum, CH-8092 Zürich

Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) ist ein mehrjähriges, stärkereiches, jedoch proteinarmes Wurzelgewächs, das in tropischen Regionen der Welt weit verbreitet ist. Auch bekannt unter den Namen Maniok, Tapioka und Mandioka, gehört die Pflanze zur Familie der *Euphorbiaceae*. Die Weltproduktion von Cassava nimmt stetig zu (168 Mio. Tonnen, 1999) und stellt nach Reis, Mais und Zuckerrohr die viertwichtigste Kalorienquelle für die tropische Bevölkerung dar. Weit über die Hälfte der Weltproduktion stammt aus Afrika und aus Westafrika; Cassava ist eines der wichtigsten Grundnahrungsmittel der Bevölkerung.

Der Anbau von Cassava verlangt verhältnismässig wenig Input und Arbeitsaufwand. Da die Pflanze auch unter anspruchslosen Bedingungen wächst, erstreckt sich deren Anbau von der regenreichen, tropischen Zone bis hin zu trockenen, subtropischen Gebieten.

Die Wurzel ist der nährstoffhaltigste Teil der Cassavapflanze. Der Stärkegehalt beträgt 20–25% und die Ernte erfolgt gewöhnlich im Pflanzenalter von acht bis 12 Monaten. Nachernteverluste belaufen sich auf 14–85% der Gesamtproduktion. Physiologische und mikrobielle Abbauprozesse in der Wurzel machen diese schon wenige Tage nach der Ernte unbrauchbar. Ein weiteres Problem für Mensch und Tier ist ihr Gehalt an Linamarin, einem cyanogenen Glukosid, das unter Einfluss des endogenen Enzyms Linamarase hydrolysiert und in die sehr toxische Blausäure umgewandelt wird.

Aufgrund des Blausäuregehaltes und der schlechten Lagerfähigkeit wird die Cassavawurzel nach der Ernte sofort weiterverarbeitet. In Afrika gibt es über 600 verschiedene Produkte, die aus Cassava hergestellt werden. Nebst dem Kochen ist die Fermentation weltweit eine oft angewendete Methode bei der Herstellung von Cassavaerzeugnissen. Die Spontanfermentation läuft unter Beteiligung eines breiten Spektrums von Mikroorganismen mit Dominanz von Milchsäurebakterien ab und bewirkt zum einen eine sichere Detoxifikation der Wurzel und zum anderen gibt sie dem Produkt einen speziellen Geschmack und verlängert dessen Haltbarkeit.

Die häufigsten fermentierten Cassavaprodukte in Westafrika sind *Gari* und *Fufu* (Nigeria), sowie *Placali* und *Attieké* (Elfenbeinküste).

Hunger, eine grosse Produktnachfrage oder ein Manko an Wasser sind Gründe dafür, dass der zeitliche Ablauf in der Cassavaverarbeitung oft verkürzt wird. Das führt zu einem ungenügenden Abbau der Blausäure, wodurch die Qualität des Produktes vermindert und die Gesundheit des Konsumenten beeinträchtigt wird. Bei den fermentierten Produkten führen Fehlgärungen oft zu Qualitäts- und Produktverlusten.

Zur Verbesserung der Situation wird beim Produkt *Attieké* der Fermentationsablauf biochemisch und mikrobiologisch analysiert und die charakteristische Fermentationsflora isoliert und identifiziert. Mit den identifizierten Isolaten werden Starterkulturen zusammengesetzt. Dies soll zur kontrollierten Fermentation führen, die Produktqualität optimieren und standardisieren sowie Fehlgärungen verhindern. Ein weiteres Ziel des Einsatzes von Starterkulturen ist die Verkürzung der Fermentationszeit bei vollständiger Detoxifikation des Produktes. Damit soll auch ein Beitrag geleistet werden zur Förderung und Unterstützung der einheimischen Erzeugnisse im Wettbewerb mit Importwaren.

Cooking Behaviour and Structure of Yam (*Dioscorea spp.*)

Judith Brunnschweiler, Remo Gmür, Béatrice Conde-Petit and Felix Escher, Institute of Food Science, Swiss Federal Institute of Technology, ETH-Zentrum, CH-8092 Zurich

Yams, *Dioscorea spp.*, is one of the most important tropical tuber crops in West Africa and is a wide spread staple food in this region. The present work, which is part of an European project in cooperation with West African countries, focuses on the structural and textural changes during cooking and processing of yam. Two yam species *Dioscorea alata* and *Dioscorea cayenensis-rotundata* were investigated. The structure of raw and cooked yam tubers was examined with light microscopy, scanning electron microscopy and confocal microscopy. The textural changes upon cooking were determined by uniaxial compression test. In addition, the starch fraction was characterised by microscopy and amperometric iodine titration. Large differences were found regarding the dry matter content and the texture after cooking within one tuber, the distal part being softer than the proximal part of the tuber.

The two yam species showed wide differences in cooking behaviour, but little difference regarding the microscopic structure of the starch fraction.

Nachertetechnik von Yams: Verbesserung der traditionellen Lagerungsmethoden für Yams (*Dioscorea* spp.) mittels Gibberellinsäure

Andreas Tschannen und Felix Escher, Institut für Lebensmittelwissenschaft, ETH-Zentrum, CH-8092 Zürich

Im Hauptproduktionsgebiet Westafrika wird Yams (*Dioscorea* spp.) hauptsächlich im traditionellen, kleinbäuerlichen Anbausystem gepflanzt und liefert heute schätzungsweise 200 kcal. pro Kopf und Tag. Zusätzlich ist die Yamskultur eng mit den sozio-kulturellen Bräuchen der Bevölkerung verknüpft. Zyklusbedingt ist eine Lagerung spät geernteter Sorten über acht Monate nötig. Die Verluste durch Fäulnis bakterieller Art, Insektenbefall und Keimung sind jedoch so gross (ca. 30–60 % der Erntemasse), dass während Juli–September kaum Yams erhältlich ist. Verluste können durch Vermeiden von Verletzungen bei der Ernte sowie Einsatz von geeigneten Pestiziden eingeschränkt werden. Die Veratmung der Reserven sowie die Verlagerung von Wasser und Nährstoffen in den ungeniessbaren Keim liegen aber immer noch im Bereich von 30%. Mittels Gibberellinsäure (GA3) kann die Dormanzperiode verdoppelt werden, was die Verfügbarkeit verlängern könnte. Das Tauchen des apikalen Knollenteils in eine GA3-haltige Lösung über 1 h in einem Becken ist zeit- und arbeitsaufwendig sowie unökonomisch im Verbrauch der Gibberellinsäure (ca. 2–3,5 mg pro Knolle). In dem hier beschriebenen Projekt geht es darum, die Anwendungsart von GA3 effizienter und feldtauglich zu gestalten.

1999 wurden in einem Lagerversuch im südlichen Zentrum der Côte d'Ivoire die Verluste zweier lokal wichtiger Yamsarten (*D. alata* cv. Bètè bètè und *D. rotundata-cayenensis* cv. Krenglé) in Abhängigkeit verschiedener GA3-Behandlungen untersucht. Mit Erde vermischte Gibberellinsäurelösung (0,1, 0,3, 0,6 oder 1,2 mg GA3 pro Knolle) respektive GA3 (0,1, 0,6 oder 1,8 mg pro Knolle) mit gelatinisierter Maniokstärke (Gel) vermischt, wurde auf den angeschnittenen Kopf der Knolle geschmiert. Die so behandelten Knollen können sofort in die Lagerstätte gebracht werden.

Alle Behandlungen mit GA3 verlängerten wirksam die Dormanzperiode und verminderten so Frisch- und Trockenmassenverluste. Im allgemeinen korrelierte der Verlust negativ mit der eingesetzten GA3-Menge. Als beste Verfahren erwiesen sich die Erdebehandlung mit 0,6 mg (19% Verlust bei Krenglé nach 3,5 Monaten, 20% bei Bètè bètè nach 6,5 Monaten) sowie die Gelbehandlung mit 1,8 mg (19% Verlust bei Krenglé nach 3,5 Monaten, 20% bei Bètè bètè nach 6,5 Monaten). Beide unterschieden sich nicht signifikant vom Tauchverfahren (15,5% bei Krenglé, 12,5% bei Bètè bètè) sowie von regelmässig entkeimten Knollen (15% bei Bètè bètè), jedoch hochsignifikant von den unbehandelten Kontrollen (32% bei Krenglé, 27% bei Bètè bètè). Beide neuen Techniken sind deutlich schneller und

sparsamer in der Anwendung als das herkömmliche Tauchverfahren, bringen aber vergleichbare Leistungen.

Die Verluste waren stark korreliert mit Keimlänge und -gewicht, welche wiederum von der Dormanzlänge bestimmt waren. Die Analyse der Trockensubstanz ergab, dass die GA3-Behandlung auch erheblich die Atmungs- und Evaporationsverluste reduzierte, da während der Dormanz die Stoffwechselaktivität der Knolle stark herabgesetzt ist. Bei Krenglé verschob sich der Keimort zum distalen Ende, zudem nahm die Anzahl Keime pro Knolle stark zu. Dies wurde als Aufhebung der Apikaldominanz in der Knolle durch GA3 interpretiert. Die Auswirkung dieses Umstandes auf die Saatgutqualität wird erforscht.

Gegenstand der laufenden on-station und on-farm-Versuche sind die Ausweitung des Methodenspektrums, die Qualität behandelter Knollen, die Wirtschaftlichkeit sowie Akzeptanz der Anwendung von Gibberellinsäure als Nacherntebehandlung von Yams.

Vergleichende Untersuchungen zur Kultivierung pflanzlicher und animaler Zelllinien im 4mentor

J. Brändli, M. Cammarata, I. Rüegg, C. Lettenbauer und Regina Eibl, FH-Wädenswil, Grüntal, Postfach 335, CH-8820 Wädenswil

Der 4mentor ist ein Laborrührreaktor der Fairmentec GmbH (Vertrieb INTEGRA Biosciences AG) mit produktberührenden Einbauten aus PEEK (metallfrei), der für die Massenvermehrung pflanzlicher und tierischer in Suspension wachsender Zellen geeignet ist.

Für transplastomische Tabakzellen konnten im 4mentor maximale Biomasseproduktivitätsraten im Bereich von 10,7 bis 28,0 g Frischgewicht/g*L*d erreicht werden. Bei der Kultivierung animaler Zellen (Hybridomzellen CB-HEP-I und CHO-Zellen CHO-XM 111-10) wurden maximale Zelldichten von $2,5 \cdot 10^6$ Z/ml bei durchschnittlicher Vitalität von 90 % im batch-Betrieb erzielt.

Dabei überzeugt sich der 4mentor durch sein einfaches Handling und seinen bedienerfreundlichen Aufbau. Vorausgesetzt, dass sich dieses Reaktorsystem bezüglich seines Preises im gleichen Segment wie vergleichbare Laborreaktoren für die Zellkulturtechnik aus Edelstahl und Glas bewegt, stellt der 4mentor eine interessante Alternative zu den herkömmlichen auf dem Markt verfügbaren Zellkulturreaktoren dar.

Wave System 20 for Application in Cell Cultivation Techniques

Ch. Lettenbauer, R. Eibl und Ch. Lettenbauer, FH-Wädenswil, Grüntal, Postfach 335, CH-8820 Wädenswil

Obgleich für Massenkulturen pflanzlicher und animaler Zellen und Gewebe sowie Insektenzellen eine geeignete Reaktortechnologie vorhanden ist, zeichnet

sich unter der Berücksichtigung der Effizienz des Verfahrens gegenwärtig ein Trend hin zum Einsatz von Reaktoren einer neuen Generation (disposable reactors, low cost systems) ab. Ein Beispiel für ein solches System im Labormassstab ist der Wave Bioreaktor 20.

Der FDA validierte Wave-Reaktor erfüllt alle Forderungen, die an ein modernes Bioreaktorsystem gestellt werden und zeichnet sich zusätzlich durch sein simples Handling, den interessanten Preis und seinen universellen Einsatz aus. So erwies sich dieser Reaktor für die Massenpropagation der nachfolgend aufgeführten Zelllinien als tauglich:

- Pflanzenzellen: – hairy roots des *Hyoscyamus muticus* KB5
– hairy roots des *Panax ginseng* T120
– Embryokultur des *Allium sativum*
– Suspensionskultur des *Taxus baccata* B9
- Animale Zellen: – CHO-Zellen: *CHO-easy-C*
– Hybridomzellen: *CB-HEP-I*
- Insektenzellen: – *Sf-9*

Die im Wave-Reaktor erzielten Biomasseproduktivitäten lagen dabei durchschnittlich um 20–40% höher als in optimierten Bioreaktoren, die für Vergleichskultivierungen herangezogen wurden wie Rührreaktoren, Trommelreaktoren, Sprayreaktoren.

Nachfolgende Arbeiten beziehen sich auf Scale up-Untersuchungen im 100-L-Wave Reaktor und die Entwicklung eines Perfusionssystems mit *on-line* Messtechnik für den kontinuierlichen Betrieb im Labormassstab.

Automatisierung in der Prozessentwicklung

Miloš Komenda und Renato Amadò, Institut für Lebensmittelwissenschaft, ETH-Zentrum, CH-8092 Zürich; Bernhard Sonnleitner, ZHW, Departement für Chemie, CH-8400 Winterthur und Carlo Andretta, Biospectra AG, CH-8952 Schlieren

Streptococcus sp. ist ein neues Bakterium, welches eine, für die Behandlung von Krebs interessante Lipoteichonsäure (LTA) produziert. Die Perspektive, diesen Organismus zwecks Herstellung eines Medikamentes zu züchten, verlangt eine Kultivierung, welche einerseits hohe Ausbeuteraten ermöglicht, andererseits GMP-Anforderungen erfüllt. Faktoren, welche das Wachstum und den LTA-Gehalt beeinflussen, müssen innerhalb dieser Prozessentwicklung untersucht und optimiert werden. Dabei müssen ganze Konzentrationsbereiche getestet werden, was eine sehr hohe Zahl von Experimenten erfordert. Weil *Streptococcus sp.* als homofermentativer Laktatproduzent sein Wachstum durch Absenken des pH-Wertes selbst inhibiert, sind parallele Experimente in Schüttelkolben ungeeignet. Als Alternative zu Schüttelkolben bieten sich Bioreaktoren an. Hohe Hardwarekosten, aber auch der grosse Zeitbedarf für parallele Probenentnahmen und Analytik sprechen gegen dieses Vorgehen. Es besteht aber die Möglichkeit, Experimente seriell als

repetitive Batchzüchtungen mit einem Bioreaktor durchzuführen. Die Voraussetzung dazu ist eine möglichst automatisierte Prozessumgebung, welche für diesen Fall entwickelt wurde.

Die automatisierte Prozessumgebung besteht aus einem Bioreaktor (Arbeitsvolumen 5–25 L), einem 300-L-Vorratstank und einer Medienmisch- und Dosierstation. Gesteuert und synchronisiert werden diese Komponenten mittels Computer, auf welchem die Software LUCULLUS PIMS, (LUCULLUS Process Information Management System) installiert ist.

Der Vorratstank wurde verwendet, um die Auswirkungen von verschiedenen Zuchtbedingungen (pH, Temperatur, pO_2) in gleichem Medium auf das Wachstum von *Streptococcus* sp. zu untersuchen. Mit der Dosierstation wurden Medien in verschiedenen Variationen hergestellt. Diese Medien wurden in den Reaktor transferrt und ihre Wirkung auf das Wachstum von *Streptococcus* sp. wurde untersucht.

Die aufgezeichneten Online-Daten wurden laufend vom System ausgewertet und für die Prozesssteuerung weiterverwendet. Auf diese Weise war es möglich, hochfrequente, repetitive Batchzüchtungen über mehrere Tage hinweg durchzuführen.

Mit dieser Methode konnten die optimalen Zuchtbedingungen für einen hohen Biomassertrag und grosse LTA-Mengen bei *Streptococcus* sp. erforscht werden.

Pectic Substances in Hemicellulosic Extracts of Apples

Marc V. Lutz, Rahel Oechslin and Renato Amadò, Institute of Food Science, Swiss Federal Institute of Technology, ETH-Zentrum, CH-8092 Zurich

Fruit ripening is associated with modifications of the cell wall polysaccharides which can be classified into three groups of polymers (cellulose, hemicelluloses and pectic substances) with different functions. To understand the textural changes during ripening, the elucidation of the fine structure of pectic polymers and their interactions with other cell wall polysaccharides is of primordial importance.

Apples (var. Glockenapfel) were harvested at different stages of ripening and the alcohol insoluble residue was prepared. Extraction and characterisation of the fractions rich in pectic substances have been performed by Fischer (1) and Wechsler (2). Further extraction of the depectinated residue with 1M and 4M NaOH respectively, yielded fractions (1M and 4M) rich in hemicelluloses. The 4M fraction was characterised by neutral sugar analysis, uronic acid determination and methylation analysis at three different stages of ripening (unripe, mature, stored). The 4M fraction was further fractionated by ion exchange chromatography on Sepharose CL-6B. Neutral sugar composition and uronic acid content were determined and methylation analyses were performed on the two chromatographic fractions (IE0.05M, IE1.00M). As expected, fraction IE0.05M consisted predominantly of xyloglucans and did not contain any uronic acid residues. Fraction IE1.00M was eluted at higher ionic strength and contained all uronic acid residues. However, this fraction still

contained substantial amounts of xyloglucans which seem to be linked to the pectic polysaccharides. IE1.00M fractions obtained from samples of different stages of ripening showed rising xyloglucan contents with increasing ripeness.

- 1 *Fischer, M.*: Changes in the pectic substances during ripening of apples. Dissertation Nr. 10336, ETH Zürich 1993.
- 2 *Wechsler, D.E.*: Charakterisierung der Struktur von Pektinen während der Reifung und Lagerung von Äpfeln. Dissertation Nr. 12044, ETH Zürich 1997.

Comparative Study of Pectic Substances from Two Apple Varieties

Rahel Oechslin, Sarah Robbiani, Marc V. Lutz and Renato Amadò, Institute of Food Science, Swiss Federal Institute of Technology Zurich, ETH-Zentrum, CH-8092 Zurich

Cell wall material from two apple varieties, Golden Delicious and Glockenapfel, were analysed. The ripe fruits of these two apple varieties show different textural characteristics. Golden Delicious apples tend to go mealy whereas apples of the variety Glockenapfel remain crisp. To investigate structural changes related to growth and ripening, pectic fractions of unripe, mature and stored apples were examined. The study included pectic polysaccharides from the middle lamella (CDTA-soluble pectins) and the primary cell wall (Na_2CO_3 -soluble pectins).

Basic characterisation of the fractions was performed by determination of neutral sugar and uronic acid residues. Structural information was obtained by methylation analysis and incubation with pure and specific enzymes.

The most distinctive difference between the two varieties was found in the pectic fraction of the middle lamella. A lower average of the linear/terminal and the linear/branching ratio (6.6 for Glockenapfel and 16.6 for Golden Delicious apples respectively), indicates that the Glockenapfel pectins have a more branched structure. The CDTA-soluble pectins in both varieties consist of smooth and hairy regions. The smooth regions (main building unit 1→4-linked GalAp) also contained rhamnogalacturonan II (RG II) subunits. Different neutral sugar side chains were found in the hairy regions: linear galactans, highly branched arabans and arabinogalactans (AG) type II. The pectic substances extracted from the primary cell wall showed the same structural elements for both varieties. Again smooth regions with 1→4 GalAp and RG II were found, which are interrupted by randomly distributed hairy regions. In contrast to the middle lamella pectins far less AG type II could be detected.

In both varieties a net loss of neutral sugar residues from the pectins of the middle lamella and the primary cell wall was observed during ripening. It was always higher in Golden Delicious apples than in Glockenapfel. The decrease in galactose was mainly accounted for by the loss of 1→4 linked Galp residues, which was less marked in Glockenapfel apples. On the other hand, in Golden Delicious pectins a linearisation of the branched araban side chains was observed during ripe-

ning. This and the net loss of galactose might be due to the action of endogenous arabinofuranosidases and galactosidases, respectively.

Eigenschaften von mehrphasigen dispersen Kartoffelprodukten

Manuela Lamberti, Béatrice Conde-Petit und Felix Escher, Institut für Lebensmittelwissenschaft, ETH-Zentrum, CH-8092 Zürich

Anhand von Instant-Kartoffelpüree wurde untersucht, ob wasserreiche Kartoffelprodukte mehrphasige kolloidale Systeme darstellen, und wie die Interaktionen zwischen den Phasen die Struktur und Textur der Produkte beeinflussen. Dazu wurden Kartoffelflocken nach einem Standardverfahren ohne Zusätze hergestellt und mit Wasser oder einem Wasser-Milch-Gemisch rekonstituiert. Die Textur und Struktur des Instant-Kartoffelpürees wurde mit rheologischen Methoden und Lichtmikroskopie charakterisiert. Instant-Kartoffelpüree ist ein mehrphasiges System, vorwiegend aus ganzen Zellen, extra- und interzellulärer Stärke und Proteinen bestehend. Die Rekonstitution mit Wasser ergibt ein System mit extrazellulärer Stärke als kontinuierliche Phase und Kartoffelzellen und -proteinen als dispergierte Phase. Die Rekonstitution mit einem Wasser-Milch-Gemisch bewirkt ein System mit Milchproteinen als kontinuierliche Phase. Diese Phaseninversion bewirkt eine Viskositätserniedrigung.

Das Verhalten von sekundären Pflanzenstoffen bei der Herstellung von Brot

Ivo Signer, K. Stucki, Markus Bachmann und Béatrice Baumer, Hochschule Wädenswil, Grüntal, Postfach 335, CH-8820 Wädenswil

Die Bedeutung und das Interesse an den sekundären Pflanzeninhaltsstoffen im Bereich der Humanernährung haben in den letzten Jahren stark zugenommen. Durch intensive Anstrengungen im Bereich der sekundären Pflanzeninhaltsstoff-Forschung wurde vieles über die einzelnen Verbindungen bekannt. Es wurde hierbei vor allem auf die Wirkung dieser Stoffe auf die menschliche Gesundheit eingegangen. Wie sich diese Stoffe gegenüber technologischen Verfahrensschritten, wie z.B. dem Backen, dem Extrudieren, dem Sterilisieren, dem Trocknen usw., verhalten, wurde dabei etwas vernachlässigt.

Im Rahmen der Semesterarbeit von Ivo Signer wurde versucht, die Auswirkungen der Brotherstellung auf die sekundären Pflanzeninhaltsstoffe (SPS) genau zu untersuchen. Weiter wurde auch der Einfluss des Extrusionsvorgangs auf die sekundären Inhaltsstoffe im Weizengriess analysiert. Als Leitsubstanz, welche repräsentativ für die Veränderungen der SPS durch den Back-, respektive Extrusionsprozess eingesetzt wurde, diente die phenolische Verbindung Ferulasäure. Die verschiedenen Mehl- und Weizengriessproben wurden auf die Veränderung der löslichen Ferulasäurefraktion untersucht.

Die Untersuchung hat gezeigt, dass der Back- bzw. Extrusionsprozess einen Einfluss auf die lösliche Ferulasäurefraktion hat. So konnte beim Backen ein Ferulasäureverlust nachgewiesen werden. Das Verhältnis der unveresterten Ferulasäure zur veresterten Ferulasäure (uvFS zu vFS) veränderte sich ebenfalls gravierend. Der Extrusionsprozess weist dem gegenüber einen wesentlich kleineren Verlust auf.

Anhand dieser Arbeit kann nicht mit Gewissheit aufgezeigt werden, wie sich die Verluste und die Veränderungen der SPS auf die Humanernährung auswirken. Mit Sicherheit kann gesagt werden, dass die technologischen Verarbeitungsprozesse einen Einfluss auf die Struktur und den Gehalt der SPS haben.

Verlängerung der Frischhaltung von Brot mit natürlichen Zutaten

M. Zimmermann und Markus Bachmann, FH-Wädenswil, Grüntal, Postfach 335, CH-8820 Wädenswil

Anhand von Backversuchen werden die Auswirkungen von Weizenpentosan, Biorealpaste und Weizenfasern untersucht. Die fertigen Brote werden bei Raumtemperatur während fünf Tagen gelagert. In dieser Zeit werden die Proben mittels Texture-Analyser auf die zunehmende Festigkeit der Krume und deren Elastizität geprüft. Weiter werden beginnend beim Teig und dann auch beim Brot pH-Messungen vorgenommen. Die Brote werden ebenfalls gewichtsmässig erfasst. Parallel zu den analytischen Messungen werden die Brote jeweils nach dem Auskühlen und am fünften Tag im kleinen Rahmen einem sensorischen Test unterzogen.

Die analytischen Tests zeigen, dass durch die Pentosanbeigabe das Wasserbindungsvermögen von Brot eine Verbesserung erfährt. Sensorisch ist eine Pentosanbeigabe von 2% vertretbar. Bei dieser Konzentration wird im Vergleich zur Standardprobe nach Ablauf der fünf Tage eine Verringerung der Krumenfestigkeit von 18% erreicht.

Durch den Austausch der herkömmlichen Backhefe mit Biorealpaste können Verbesserungen im sensorischen Bereich erzielt werden. Bezüglich der Krumenfestigkeit müssen Abstriche verzeichnet werden. Dieses Phänomen lässt sich zum einen durch eine Erhöhung der Teigtemperatur und zum anderen mit höherer Biorealhefedosierung leicht vermindern.

Der Einsatz von Weizenfasern reduziert analog zum Weizenpentosan ebenfalls die Krumenfestigkeit. Die auch von der sensorischen Seite her als gut eingestufte Probe weist einen Weizenfaseranteil von 2% auf. Dieselbe Probe führt im Vergleich zur Referenz nach fünftägiger Lagerung zu einer Reduktion der Krumenfestigkeit um 14%.

Zwischen den subjektiven, sensorischen Tests und den Resultaten der quantitativen, instrumentellen Festigkeitstestmethode kann generell eine gute Korrelation aufgezeigt werden. Die gemachten Vorschläge bezüglich der optimalen Konzentrationen der jeweiligen Zusätze, verlangen jedoch noch nach einer Bestätigung durch ein sensorisches Panel.

Cysteine-containing Peptides of Beef Muscle Tissue

Katharina Schneider, Richard Hurrell and Renato Amadò, Institute of Food Science, Swiss Federal Institute of Technology Zurich, ETH-Zentrum, CH-8092 Zurich

Food fortification is generally considered as the most cost effective sustainable way to increase iron intake. A major problem is that most foodstuffs contain potent inhibitors of iron absorption such as phytic acid in cereals and vegetables and phenolic compounds in certain beverages. Absorption of most iron enriched food products would also be low unless an absorption enhancer is added. Ascorbic acid is the most commonly-used enhancer. It increases absorption of all iron fortification compounds several fold, but it has certain drawbacks being unstable to processing and storage. The only other food component known to increase iron absorption in human subjects is muscle tissue. Depending on composition and physico-chemical characteristics, meat muscle tissue has an enhancing effect on iron absorption in the small intestine. It is well established that this effect is due to cysteine-containing peptides. These are important for dietary reasons, especially for people suffering from iron deficiency anaemia (IDA).

Aim of the present work is to extract muscle proteins from meat, degrade them enzymatically and to isolate cysteine-containing peptides. The influence on iron absorption is estimated by iron dialysability of an *in vitro* digestion technique.

Well hung beef muscle tissue was extracted with a saline solution. The protein extract was treated with acidified acetone to remove porphyrin. The haem-free protein extract was screened by an *in vitro* absorption technique and it showed an enhancing effect on iron dialysability. Alternatively water soluble proteins were extracted from muscle tissue. Porphyrin was removed and the myofibril proteins were extracted with saline solution. SDS-electrophoresis indicated that both extraction methods yielded the same haem-free proteins, but in different amounts. The extracts were incubated with proteolytic enzymes, and the small peptides were further analysed by MALDI-TOF MS and amino acid analysis. The cysteine-containing peptides were enriched and isolated by affinity chromatography. In the next phase of the project their influence on iron absorption will be tested by the *in vitro* digestion technique.

Genetischer Polymorphismus der Milchproteine in Schweizer Ziegenrassen

Thomas Büeler und Zdenko Puhan, Institut für Lebensmittelwissenschaft, ETH-Zentrum, CH 8092 Zürich

Die europäische Ziegenzucht ist stark auf die Milchproduktion ausgerichtet. Mit lediglich 3% der globalen Ziegenpopulation werden 17% der Ziegenmilch produziert, davon 80% in Griechenland, Spanien und Frankreich.

Auch in der Schweiz liegen Ziegenmilchprodukte im Trend. Ziegenkäse ist auf dem Schweizer Käsemarkt eines der erfolgreichsten Produkte. Dem Schweizer Herdebuch gehören die vier Milchrassen Saanen, Appenzeller, Gemsfarbige Gebirgsziege und Toggenburger sowie die Berggrassen Walliser Schwarzhalsziege, Nera Verasca und Bündner Strahlenziege an.

Die Proteinfraction der Ziegenmilch umfasst die vier, für die Käseherstellung wichtigen, Caseine α_{s1} -, α_{s2} -, β - und κ -Casein und die beiden Molkenproteine α -Laktalbumin und β -Laktoglobulin. Analog zur Kuhmilch, beträgt in der Ziegenmilch der Anteil von Casein am Gesamteiweiss 80 %.

Von allen Caseinen weist das α_{s1} -Casein den grössten genetischen Polymorphismus auf. Auffallend sind die ausgeprägten Differenzen in der Korrelation zwischen Proteinsynthese und den einzelnen Allelen. Von den bisher elf nachgewiesenen Allelen bewirken sechs (A, B₁, B₂, B₃, B₄ und C) einen «hohen» Gehalt von rund 3,5 g/l α_{s1} -Casein pro Allel. Das E-Allel weist einen «mittleren» (1,1 g/l) und die F- und G-Allele einen «niedrigen» Gehalt (0,45 g/l) auf. Die restlichen Allele (O₁, O₂) werden als Nullallele bezeichnet und exprimieren kein α_{s1} -Casein. In Schweizer Ziegenrassen sind vor allem die schwachen Allele (F, E, O) mit hohen Frequenzen vertreten.

Neben dem Proteingehalt wird auch das Verhalten des Caseins bei der enzymatischen Gerinnung der Milch während der Käseherstellung vom α_{s1} -Casein-Typ beeinflusst. Die übrigen Caseine sind ebenfalls polymorph, zeigen jedoch nicht dieselbe Vielfalt wie das α_{s1} -Casein.

Die Forschungsarbeiten im Bereich Ziegenmilch sollen Aufschluss geben über:
Genetische Vielfalt in Schweizer Ziegenherden und die
Auswirkung des Polymorphismus auf käseereitechnologisch wichtige Eigenschaften.

Im einzelnen bedarf dies folgender Untersuchungen:

Phänotypisierung der Caseine mittels Isoelektrischer Fokussierung (IEF),
Berechnung der Korrelation zwischen dem α_{s1} -Casein-Typ und dem Proteingehalt sowie den Caseinfraktionen,

Erfassung der Gerinnungseigenschaften (Gerinnungszeit, Gallertfestigkeit und Synärese),

Quantifizierung des Einflusses des α_{s1} -Caseins auf die Käseausbeute.

Die Resultate dieser Studie sollen helfen, die Effizienz der Züchtungsprogramme zu steigern, um dadurch die Käseereitauglichkeit der Ziegenmilch zu verbessern.

Schnellmethoden in der Lebensmittelverarbeitung und im Lebensmittelhandel: Anwendungen und Bedürfnisse*

Reto Battaglia, SQTS Swiss Quality Testing Services, Dietikon

Der olympische Gedanke des «schneller, besser, höher» – in der kommerziellen heutigen Welt vielleicht übersetzbar mit «konkurrenzfähiger, kostengünstiger, profitabler» – scheint von jeher auch die analytisch tätigen Lebensmittelchemiker motiviert zu haben. Die Überschrift einer Publikation «Eine neuartige, einfache und schnelle Methode ...» stellt die Aufmerksamkeit jedes Lesers einer Fachzeitschrift sicher, und niemand würde den Mut oder die Torheit aufbringen, eine neue Analysenmethode oder eine Variante eines bekannten Verfahrens zu publizieren mit dem Prädikat «langsam» oder dem Titel «Eine umständliche Methode zur Bestimmung von...» – und auch keine Fachzeitschrift würde so etwas aufnehmen. Schnellmethoden, rationelle, einfache Methoden sind gefragt. Wieso? Ist «schnell» immer notwendig? Schnell ja – aber wo? und wann? Was ist der Preis oder Lohn dieser Schnelligkeit? Diese Fragen sollen in der Folge anhand weniger illustrativer Beispiele diskutiert werden.

Einsatz und Bedürfnisse in der Lebensmittelindustrie

Die Lebensmittelindustrie ist eine Prozessindustrie und unterscheidet sich von der diskreten Fertigungsindustrie – z.B. der Herstellung von Küchengeräten – dadurch charakteristisch, dass sie mit dynamischer Materie umgeht und diese in ein Endprodukt umwandelt, welches möglichst gleichbleibende Eigenschaften aufweisen soll. Dynamische Materie heisst jedoch, dass die Roh- und Halbfabrikate, welche zur Verarbeitung gelangen, von unterschiedlicher Qualität und im ständigen Wandel begriffenen Eigenschaften sind. Keine einzige Wagenladung beispielsweise eines frisch geernteten Gemüses gleicht exakt der vorherigen oder nächsten, die

* Vortrag gehalten an der 112. Jahresversammlung der Schweizerischen Gesellschaft für Lebensmittel- und Umweltchemie, Muttenz, 1. September 2000

Qualitätsmerkmale und Konzentration der Inhaltsstoffe von Früchten sind in jedem Erntejahr zumindest leicht verschieden, die Belastung von Getreide und anderen Produkten mit Toxinen hängt nicht nur vom lokalen Klima ab, sondern auch von der landwirtschaftlichen Praxis, den Erntemethoden und anderen Parametern. Die Dynamik der Rohprodukte zeigt sich auch unmittelbar nach der Ernte in oft dramatischer Weise. So beginnt, salopp ausgedrückt, sofort die Kompostierung, welche zum Teil rasant zum Verlust wertvoller Inhaltsstoffe führt! Ob Bohnen, Spinat oder andere Gemüse nach der Ernte sofort, d.h. innerhalb von beispielsweise vier Stunden, blanchiert und z.B. tiefgekühlt werden oder erst am anderen Tag (und in der Zwischenzeit irgendwo am Haufen liegen) ist für den Gehalt an Vitamin C, die Knackigkeit und das appetitliche Aussehen entscheidend. Diese Beispiele illustrieren, dass in der Lebensmittelindustrie zu keiner Stunde, bei keiner Charge davon ausgegangen werden kann, dass man mit Materialien konstanter Zusammensetzung und somit konstanter Eigenschaften arbeitet.

Wenn nun, wie oben erwähnt, aus solchen immer wieder leicht verschiedenen Ausgangsmaterialien Produkte konstanter Zusammensetzung hergestellt werden sollen, müssen offensichtlich die Prozessparameter laufend den wechselnden Erfordernissen angepasst werden. Temperaturen, Zeiten, aber auch die Dosierung von Zutaten sind betroffen, und die Art der notwendigen Anpassung hängt entscheidend von der Kenntnis der Ausgangsmaterialien und der Prozessparameter ab. Hier setzen nun die analytischen Arbeiten ein, und da ist sehr oft Schnelligkeit wichtig.

Kenntnis der Roh- und Halbfabrikate; Wareneingangskontrollen

Jedes Unternehmen kauft die zur Verarbeitung benötigten Waren gemäss festgelegten Spezifikationen ein. Diese beruhen einerseits auf gesetzlichen Anforderungen, welche sich von jenen im Ursprungsland der Ware geltenden unterscheiden können. Andererseits werden die Spezifikationen «haus-intern» festgelegt, um bei Einhaltung einer einmal entwickelten Rezeptur mit den entsprechenden Prozessparametern auch in der Zusammensetzung und Sensorik konstante Produkte herstellen zu können. Im weiteren diktieren Risiko- bzw. Lebensmittelsicherheits-Überlegungen mikrobiologische Spezifikationen. Besonders im Lichte des anhaltenden modernen Trends, möglichst auf Konservierungsmittel und auch auf thermische Konservierungsverfahren zu verzichten, Lebensmittel auf sehr hoher Verarbeitungsstufe mit kaum mehr zu überbietendem Frischeaspekt auf den Markt zu bringen, kann deren Bedeutung nicht hoch genug eingeschätzt werden. Es ist somit einleuchtend, dass seriöse Unternehmen sich bei jeder Warenlieferung vergewissern, ob diese den Spezifikationen entspricht.

Zu dieser Qualitätskontrolle müssen sich Industrie und Lebensmittelhandel grundsätzlich in gleichem Masse verpflichten. Dabei zeigt sich, dass die Lebensmittelverarbeiter hier ein viel grösseres Interesse dokumentieren als der Handel, welcher diese Pflicht gerne auf den Lieferanten abschiebt. Die modernen Qualitätssicherungslehren tun hier ein übriges: sie verkünden, auf chemische Analysen könne

so oder so weitgehend verzichtet werden; Auditberichte und Zertifikate seien genügend.

Die Erfahrung, dass Papier geduldig ist und Qualitätszertifikate für alles und jedes problemlos erhältlich sind, ist nicht neu und zeigt sich auch im Lebensmittelhandel. Sowohl die Lebensmittelindustrie als auch der Detailhandel kommen nicht ohne gewisse eigene Untersuchungen aus. Nicht zuletzt wird dies auch von der Gesetzgebung verlangt: die Wahrnehmung der Sorgfaltspflicht («due diligence») ist national und international festgeschriebene Forderung.

Erfahrungsgemäss haben solche Analysen nur dann einen Sinn, wenn sie anhand einer Probe aus der zu liefernden bzw. eingekauften Warencharge durchgeführt werden. Dies kommt einer eigentlichen Wareneingangskontrolle gleich. Warenlieferungen werden jedoch erst dann abgerufen, wenn sie benötigt werden; Lagerkosten sind hoch, und niemand hat ein Interesse, Lebensmittel, seien es Rohstoffe, Halbfabrikate oder Fertigprodukte, länger als unbedingt nötig irgendwo «ruhen» zu lassen. Abgesehen von den Kostenfaktoren leidet natürlich in der Regel auch die Qualität.

Dies bedeutet jedoch auch, dass für die Durchführung der Analysen ein absolutes Minimum an Zeit zur Verfügung steht, und somit schnelle Analytik gefordert wird. Für die zu bestimmenden, qualitätsrelevanten und teilweise gesetzlich definierten Parameter (Mindestgehalte, Toleranzwerte) stehen in der Regel amtlich anerkannte Methoden zur Verfügung. Diese Methoden sind oft umständlich und entsprechen selten dem neusten Stand der Technik. Zuweilen sind sie auch apparativ recht aufwendig und somit kostenintensiv. Jede allenfalls zum Einsatz gelangende Alternativmethode (schneller, günstiger) muss zumindest im kritischen Entscheidungsbereich (Annahme oder Ablehnung des Warenloses) vergleichbare Werte liefern und somit validiert sein. Dies ist ein Anspruch, welcher vor der Auswahl einer Schnellmethode, zusammen mit anderen Faktoren, bedacht werden muss. Eine Betrachtung des Gesamtsystems kann durchaus zum Schluss führen, dass die Schnelligkeit der Analysenmethode zur zeitgerechten Lösung des Problems (Warenlosannahme oder -ablehnung) von untergeordneter Bedeutung ist.

1. Beispiel: Aflatoxinkontrolle bei Erdnüssen aus den USA Analytik

Noch bis vor wenigen Jahren waren die Grenzwerte für Aflatoxin B₁ in der Schweiz tiefer als in den EU Staaten und diese wiederum waren wesentlich tiefer als in den USA. Die vorhandenen international gebräuchlichen Analysenmethoden, insbesondere die AOAC-Methoden (1) waren nicht geeignet, in der Region um 1 ng/g genügend verlässliche Werte zu liefern. Die in der Schweiz entwickelte Methode war hier die Methode der Wahl (2). Sie basierte auf einer zweidimensionalen dünnenschichtchromatographischen Auftrennung eines Extrakts und anschließender densitometrischen Quantifizierung. Die Dauer des Analysengangs (Extraktion, Entfettung, Dünnenschichtchromatographie, Auswertung) beläuft sich hier auf

ca. vier Arbeitsstunden. Wenn jede Probe doppelt bestimmt wird, und jedesmal eine Probe mit Standardzusatz mit analysiert wird, können bei rationeller Arbeitsweise von einer geübten Person pro Tag höchstens vier Proben zuverlässig und abschliessend bearbeitet werden. Somit werden pro Arbeitswoche ca. 16 Proben verarbeitet. Die in den letzten Jahren optimierten Immunosäulen clean up und hplc-Auftrennungen der Probenextrakte liessen hier eine starke Rationalisierung zu. Tagsüber kann extrahiert werden, über Nacht wird chromatographiert und am anderen Tag werden die Chromatogramme ausgewertet. Auf diese Weise gelingt es, den Probendurchsatz auf über 30 pro Woche zu verdoppeln.

Verzichtet man auf eine Quantifizierung und gibt sich mit einem ja/nein Entscheid in der Gegend von 2 ppb Aflatoxin B₁ zufrieden, können weitgehend rohe Probenextrakte innerhalb weniger Minuten (ein validiertes Neogen Aflatoxin Kit wird mit 5 Minuten Analysenzeit angepriesen (3)) mit immunchemischen Kompaktsystemen analysiert und so der Probendurchsatz noch weiter gesteigert werden.

Die Zeiten, welche oben angegeben werden, beziehen sich jedoch meist nur auf die letzten paar Analysenschritte. Und auch dort, wo in der Literatur Zeiten für die Probenvorbereitung angegeben werden (z.B. Neogen zitiert für die totale Analysenzeit 20 Minuten), sind diese meines Erachtens völlig unrealistisch: wer einmal 15 kg Erdnüsse homogenisiert hat, weiss wieviel Zeit z.B. die Reinigung des Mixers oder Kutters allein braucht! – Um die Entscheidung für die Wahl der richtigen Methode treffen zu können, müssen vorerst die Systemgrenzen realistisch gesetzt werden, und da gehören selbstverständlich Vorbereitungszeiten und Reinigungsarbeiten mit dazu!

Warenlogistik

Erdnüsse, welche von der Schweiz aus in den USA bestellt werden, liegen dort in irgendeinem Lagerhaus, z.B. in Georgia, normalerweise abgepackt in 30 kg Säcke. Unmittelbar nach der Bestellung muss Frachtraum bei einer Transportgesellschaft reserviert werden, und der Verschiffungstermin wird festgelegt. Dieser liegt in der Regel frühestens eine Woche nach dem Bestelleingang. Die Ware wird am Tag vor dem geplanten Verlad in einen Container – wir nehmen an, es handle sich um einen Abruf von 20 Tonnen – umgeladen und dieser wird per Camion zum Hafen transportiert. Tags darauf legt das Schiff ab, und die Überfahrt von Houston nach Rotterdam dauert in der Regel sechs Tage.

Dort wird die Ware eventuell zwischengelagert, dann auf einen Lastwagen umgeladen, und dieser kommt am nächsten Morgen in der Lebensmittelfabrik in der Schweiz an. Diese lagert die Erdnüsse somit ca. 20 Tage nach der Bestellung in einen Silo ein. Und da jedermann sehlichst auf die Lieferung gewartet hat (aus finanziellen Gründen wird zum letztmöglichen Zeitpunkt bestellt – und bezahlt) pressiert's jetzt fürchterlich: Sofort muss mit dem Rösten, Abpacken und Ausliefern begonnen werden – falls der Aflatoxingehalt unter dem Grenzwert liegt.

Probenahme

Somit müssen nun Proben genommen, in ein Labor verbracht und dort analysiert werden. Die Probenahme gestaltet sich schwierig: Lagert die Ware noch in den Säcken, müssen nach dem Zufallsprinzip aus mindestens 30 Säcken je 500 g Nüsse gezogen werden, und diese müssen entweder homogenisiert werden, damit eine repräsentative Testportion von ca. 80 g eingewogen werden kann, oder die gesamte Probe muss nach einer Grobmahlung in einem Grosseextraktor ein erstes Mal extrahiert werden. Lagert sie lose im Silo, muss (theoretisch!) umgepumpt und mit einem kontinuierlichen Sampler eine genügend grosse Probe gezogen werden. Schon nur diese Arbeiten dauern oft gegen einen Tag, und zumal wenn das Labor nicht «im Hause» ist, kann es noch länger dauern, bis die Proben endlich zur Analyse gelangen.

Oft sind noch weitere Verzögerungen zu verzeichnen, falls beispielsweise das Labor nicht avisiert wurde und somit mit der Arbeit nicht gleich bei Probenankunft gestartet werden kann. Und teuer wird die Sache auch: im ersteren Fall muss ein Gabelstaplerfahrer einige Stunden Säcke im Lager abräumen, öffnen, Probe entnehmen, Sack wieder zunähen, kennzeichnen, Probe verpacken, kennzeichnen usw. und im zweiten Fall gestaltet sich die Probenahme auch nicht viel weniger kompliziert.

Zeitgewinn durch schnelle Analytik?

Spätestens jetzt wird klar, dass es in Bezug sowohl auf den Zeitfaktor als auch die Kosten völlig irrelevant ist, ob die Aflatoxinbestimmung im einmal gewonnenen Extrakt fünf Minuten oder zwei Stunden dauert. Man ist mit dem Analysenresultat so oder so viel zu spät! – Dies wird vor allem dann klar, wenn die Ware zurückgewiesen werden muss. Die Lösung dieses Problems liegt natürlich auf der Hand: Die Ware muss in der Zeit zwischen dem Bestelleingang und der Verschiffung am Ursprungsort der Ware analysiert werden. Dort gestaltet sich bereits die Probenahme einfacher: die Warenlose sind noch beisammen und statistische Proben in der Regel (im Falle der USA) bereits durch das USDA gezogen. Diese Proben können in einem der hochspezialisierten regionalen Aflatoxinlabors nach schweizerischen Spezifikationen untersucht werden. Und dort nun zahlt sich die Verwendung der schnellsten aller zur Verfügung stehenden Methoden aus: nicht aus zeitlichen Gründen – Zeit ist jetzt genügend vorhanden – sondern weil Schnellmethoden rationeller, d.h. weniger arbeitsaufwendig sind und somit billiger! Dies ist, wie bereits eingangs erwähnt, die eigentliche Motivation, Schnellmethoden – oder besser: rationelle Methoden – zu entwickeln und anzuwenden: die Analytik von Waren kann damit wesentlich günstiger werden. Von diesem Vorteil kann jedoch nur dann profitiert werden, wenn die Probenahme, der Ort und der Zeitpunkt im Warenbeschaffungsprozess sauber evaluiert und optimal gewählt werden.

2. Beispiel: Antibiotikakontrollen in Kälbernieren und Honig

Sowohl bei Eingangskontrollen von Waren, welche in kleinen Losen geliefert werden, als auch bei hohem Probenanfall bei kontinuierlicher Fabrikationskontrolle oder aber auch in Fällen, wo aufgrund eines neu entdeckten Problems hoher Analysenbedarf entsteht, sind oft schnelle und gleichzeitig zuverlässige Methoden gesucht.

Nicht so sehr die Analysenzeit einer Einzelprobe steht hier im Vordergrund, sondern die Forderung, innerhalb möglichst kurzer Zeit viele Warenlose zu beurteilen. Hier bieten sich selbstverständlich qualitative oder bestenfalls halbquantitative sog. Screeningmethoden an, welche in der Regel auf immunchemischen Reaktionen beruhen. Deren Anwendung ist – in der praktischen Durchführung – einfach und sie erlauben es, innerhalb kurzer Zeit einwandfreie Proben zu erkennen. Da davon ausgegangen wird, dass der Grossteil der Proben jeweils den Anforderungen genügt, resultiert eine stark reduzierte Probenzahl, welche «positiv», d.h. mit dem Analyten kontaminiert erscheint.

Diese Verdachtsproben müssen dann anschliessend mit einer spezifischen und beweiskräftigen Methode nachanalysiert werden. Durch diese Vorsortierung, bei welcher sozusagen die Spreu vom Weizen getrennt wird, kann eine sehr grosse Arbeitersparnis beziehungsweise ein grosser Analysenzeitgewinn resultieren. Dies hat sich mittlerweile in unseren Laboratorien, z.B. bei der Analyse von Kälbernieren auf Antibiotika, hervorragend bewährt. So können von zwei Personen in einer Woche mit dem Charm II Test (4) ca. 60 Nieren auf Tetracycline, Sulfonamide und Aminoglycoside geprüft werden. Die resultierenden verdachtspositiven Proben werden darauf mit chromatographischen Verfahren (mit Doppelbestimmungen und Standardzusätzen) weiter untersucht. Diese Analysen sind relativ zeitaufwendig; hochgerechnet kann eine Person pro Woche höchstens 30 Proben auf jeweils eine der Substanzklassen Sulfonamide und Tetracycline untersuchen; bei den Aminoglycosiden (Streptomycin usw.) sind es nur gegen 15 Proben pro Woche.

In diesem Fall ist unschwer zu erkennen, und dies zeigt auch die Berechnung der Analysenkosten eindrucklich, dass sich der Einsatz der Screeningmethoden lohnt. Dass dies immer von Fall zu Fall sorgfältig evaluiert werden muss, leuchtet ein. Neben den finanziellen Aspekten, welche die Entscheidung, eine Screeningmethode einzusetzen, beeinflussen, sind jedoch noch andere Gesichtspunkte wesentlich und müssen unbedingt berücksichtigt werden.

Screeningtests dürfen nur angewandt werden, wenn falsch negative Resultate ausgeschlossen werden können und sich die falsch positiven (d.h. jene Resultate, welche sich durch die spezifische Methode nicht bestätigen lassen) in einem vertretbaren Rahmen halten. Falsch negative Resultate können bei seriös validierten Test Kits ausgeschlossen werden. Das Validierungsverfahren, welches beispielsweise vom AOAC Research Institute angewandt wird, schliesst diese Abklärungen mit ein (5), und die Nachweisgrenzen werden experimentell ermittelt.

Der Prozentsatz der falsch positiven Resultate andererseits wiederum richtet sich nach den individuellen Bedingungen, unter denen ein Labor arbeitet; und andererseits setzt die richtige Handhabung vieler Screeningtests grosse Erfahrung voraus. So muss beispielsweise der cut-off Wert, oberhalb dessen eine Probe als verdachtspositiv bewertet wird, manchmal täglich und sicher für jedes neue Test Kit durch das Mitführen von Proben, welchen in der Region der Nachweisgrenze Analyt zugesetzt wurde, bestätigt werden. Die diesjährige Kampagne der Antibiotikaanalysen in Honig hat diese Problematik in scharfer Weise verdeutlicht. Während der Prozentsatz der falsch positiven Resultate bei den oben angegebenen Tests von Nieren deutlich und konsistent tiefer als 5 % liegt, führte der für Sulfonamide erhältliche Charm Test in den Händen eines jahrelang damit eingeübten Routiniers – mit der entsprechenden internen Qualitätskontrolle und einigem Optimierungsaufwand – zu 20–30 % positiven Resultaten, von welchen in der Folge durch chromatographische Methoden nur ca. die Hälfte bestätigt werden konnte. Mit anderen Worten beobachteten wir auf die Gesamtprobenzahl berechnet ca. 10–15 % falsch positive Resultate; auf die im Screening positiv ausgeschiedenen Proben sind es allerdings 50 %. Dies bedeutet nun jedoch nicht, dass der Test dadurch unbrauchbar ist, wie bereits eine einfache Überlegung zeigt: die klassischen chromatographischen Methoden erlauben es einer Person mit drei Ic-Geräten, in einer Woche höchstens ca. 25 Honigproben auf die Anwesenheit eines Antibiotikums aus den drei Stoffklassen Sulfonamide, Aminoglycoside und Tetracycline zu untersuchen. (Hier ist zu erwähnen, dass wir dies noch nie wirklich ausprobiert haben!) Mit der Screeningmethode hingegen können in vier Tagen 50 Proben analysiert werden, von welchen die positiv aufscheinenden anschliessend an einem Tag chromatographisch untersucht werden können. – Diese Rechnung geht natürlich nur dann auf, wenn der Kontaminationsgrad deutlich unterhalb von 50 % aller Proben liegt.

Dieser Fall bestätigt in eindrucklicher Weise, dass der Einsatz von an sich Zeit und Kosten sparenden Screeningverfahren für jedes Problem gesondert evaluiert werden muss. Unter Umständen lässt sich auch das klassische Bestätigungsverfahren so rationalisieren – konstanter hoher Probenfluss vorausgesetzt –, dass sich die dort in der Regel höheren Investitionen rechnen.

Kontrollen zur kontinuierlichen Anpassung von Verarbeitungsprozessen

Glücklicherweise sind sehr viele der hier verlangten Parameter durch einfache physikalische Messungen erueierbar. Die Kenntnis der Basisgrössen wie Temperatur, Leitfähigkeit, Viskosität und pH genügt sehr oft, um Dosierungen von Zucker, Verdickungsmitteln, Fruchtsäuren und dergleichen anzupassen. Diese Messungen können selbstverständlich online durchgeführt werden und erlauben es somit, die Prozessparameter kontinuierlich den Bedürfnissen anzupassen. Mit geringem Zeitaufwand sind auch die übrigen physikalischen Messungen verbunden wie Brechungsindex, Dielektrizitätskonstante oder auch NIR- bzw. NIT-Analysen. Vor

allem letztere findet in der Lebensmittelindustrie sehr verbreitet Anwendungen. Beispiele sind:

- Getreidemehle (Protein, Stärke, Wasser)
- Kakaomassen (Fett)
- Eiscreme-Mix (Wasser, Fett)
- Wurstbrät (Protein, Fett, Wasser)

Etwas komplexer wird es, wenn es um Bestimmungen klassischer lebensmittelchemischer Parameter zur laufenden Prozesskontrolle geht. Auf die letzteren soll hier nicht eingegangen werden. Als Beispiel für das erstere Problem dient die Herstellung von Pommes Chips. Dort müssen die Prozessparameter wie Durchsatz, Fritiertemperatur und Trocknungsbedingungen so geregelt werden, dass ein konstanter Fettgehalt im Endprodukt resultiert. Die Fettaufnahmefähigkeit wiederum hängt auch von der Natur und Beschaffenheit der verwendeten Kartoffeln ab, welche aus den erläuterten Gründen nicht konstant ist. Die laufende Analyse des Fettgehaltes während der Herstellung ist somit entscheidend für die konstante Qualität des Endprodukts. Dass diese Fettbestimmung schnell sein muss, leuchtet ein, wenn man sich vor Augen hält, dass die Chips-Produktion mit einem Durchsatz von 600 kg pro Stunde läuft.

Was ist nun eine schnelle Fettbestimmung? Natürlich bieten sich hier verschiedene Methoden an: NIR- bzw. NIT-Messungen, Brechungsindex eines standardisierten Extraktes oder eine der klassischen Aufschluss/Extraktionsmethoden mit gravimetrischem Endschnitt. Bevor nun die offensichtlich schnellste Lösung – NIR/NIT – gewählt wird, sollen noch ein paar Randbedingungen in die Überlegung mit einbezogen werden:

Probenvorbereitung

Wohl ist es wahr, dass eine spektroskopische Untersuchung schneller ist als eine nasschemische; die Ansprüche an die Probenvorbereitung sind jedoch im ersteren Falle ungleich höher. Um eine gute Reproduzierbarkeit bei NIR/NIT Analysen zu erhalten, muss dafür gesorgt werden, dass die Probe optimal homogenisiert wird und die Partikelgröße konstant gehalten wird. In Anbetracht der im Falle einer NIT-Messung kleinen Testportion ist zudem kritisch, ob die zur Messung gelangende Menge genügend repräsentativ ist, um aufgrund des Messresultates die Prozessparameter zuverlässig anpassen zu können.

Standort des Laboratoriums

Betreibt eine Lebensmittelfabrik ein zentrales Laboratorium, welches die gesamten analytischen Arbeiten erledigt, dauert der Probentransport von der Fabrikationslinie bis ins Laboratorium unter Umständen bereits eine Viertelstunde und bindet teure Arbeitskräfte! Die Attraktivität von sogenannten Linienlaboratorien wird hier sofort klar. Befindet sich das Laboratorium unmittelbar bei der Fabrika-

tion, kann die Probenahme und die Analyse von derselben Person erledigt werden und verschachtelte Arbeitsabläufe sind problemlos möglich.

Analysenkosten

Sicher ist eine NIR/NIT-Analyse günstiger als eine nasschemische Fettbestimmung – falls das Gerät rund um die Uhr im Einsatz steht. Dies wäre vielleicht der Fall, wenn sämtliche Fettbestimmungen der Fabrik mit demselben Gerät vorgenommen würden; dies wiederum bedingt eine zentrale Analytik. Sollen in mehreren Linienlaboratorien Fettanalysen durchgeführt werden, müssten mehrere Geräte, welche einen grossen Teil der Zeit nicht gebraucht würden, angeschafft werden; hier sind offensichtlich die Investitionen hoch und kaum vertretbar.

Es verwundert somit kaum, dass im konkreten Fall das an sich zeitaufwendige klassische Extraktionsverfahren angewandt wird. Die Analysendauer kann durch Verkleinerung der Lösungsmittelmengen und somit der Extraktrocknungszeit verringert werden. Zudem – und dies ist in Anbetracht der Tatsache, dass Nährwerte deklariert werden und die Angaben stimmen müssen – liefert das Verfahren im Moment die zuverlässigsten Werte.

Ausgangskontrollen

Die Ausgangskontrollen des Lieferanten sind die Eingangskontrollen des Kunden! Dieser Grundsatz ist vor allem dann anwendbar, wenn nicht damit zu rechnen ist, dass sich eine Ware während des begrenzten Zeitraumes des Transports zum Abnehmer verändert. Statische Analyten wie Hauptkomponenten, Zusatzstoffe, Pestizidrückstände, Toxine, Schwermetalle und andere Stoffe können somit in Absprache mit den Kunden zu vereinbarten Zeiten vorgenommen werden, was die Wahl der kostengünstigsten Methoden erlaubt. Also auch hier ist es nicht der Zeitfaktor per se, welcher die Wahl der Methode beeinflusst, sondern die Kostenfrage ist entscheidend. Und je nach Struktur der Laboratorien bietet sich die Verwendung rationellster oder eben klassischer Methoden an. Im Falle von Frischprodukten, nur begrenzt haltbaren Artikeln zeigt sich die Sache allerdings wesentlich kritischer.

Mikrobiologische Parameter sind dynamische Analyten; der mikrobiologische Zustand einer Ware ändert sich laufend – und dies bekanntlich auch bei Kühlung. Hier ist eine Wareausgangskontrolle absolut zeitkritisch, zumal wenn gewisse Produkte mit einer Auslieferquarantäne belegt sind, bis die Nichtnachweisbarkeit von Salmonellen, Listerien oder *E. coli* erwiesen ist. Zu erwähnen sind hier gekühlte Fertigsalate, Tartarfleisch, Terrinen und andere heikle Lebensmittel.

Und ausgerechnet auf dem mikrobiologischen Sektor sind gute, zuverlässige Schnelltests, welche innerhalb von wenigen Stunden über das Vorliegen lebender Keime der zitierten Art Auskunft geben, kaum bzw. (noch) nicht erhältlich. Alle vorhandenen Test Kits bedingen eine Bebrütung der Proben über mindestens einen Tag, bevor mit der «schnellen» Diagnostik eingesetzt wird. Und dies ist jedenfalls eine unbefriedigende Situation, wenn von der Gesamthaltbarkeitsfrist eines Pro-

dukts von beispielsweise 10 Tagen ein ganzer (Verkaufs-)Tag für die Quarantäne verloren geht. Hier warten Lebensmittelindustrie und Handel sehnlichst auf echte Schnellmethoden! Der Bedarf dafür ist hoch und zeigt sich auch darin, dass bei Vorliegen eines solchen Tests kaum allzu rappenspalterische Diskussionen um den Preis einer Analyse geführt werden dürften. Die gegenwärtig in Entwicklung befindlichen PCR-Methoden sind, ebenso wie schnelle massenspektrometrische Verfahren, vielversprechend. Allerdings zeigt sich auch hier bereits erneut, dass Schnelligkeit ihren Preis hat: ein Massenspektrometer für die Bakterienidentifizierung ist nicht unter Fr. 200 000.– zu haben, und auch PCR-Analysen müssen mit Hilfe eines Geräteparks durchgeführt werden, der nicht gerade billig ist. «Time is money» heisst es bereits seit jeher, und dies scheint sich nun auch bei den sogenannten Schnellmethoden zu bewahrheiten. Gerne warte ich auf den Gegenbeweis!

Zusammenfassung

Es wird diskutiert, dass die Wahl von Schnellmethoden sehr oft nicht durch den Zeitfaktor bestimmt wird, sondern dadurch, dass schnelle Methoden weniger arbeitsintensiv, rationeller und somit günstiger sind. Paradebeispiele sind jene, wo Schnellmethoden für rasche Übersichtsuntersuchungen eingesetzt werden können, wodurch eine Reduktion der Anzahl Proben resultiert, welche mit aufwendigen Methoden zwecks Bestätigung der Befunde analysiert werden müssen. Fast nur im Falle mikrobiologischer Warenausgangskontrollen ist Zeit ein entscheidender Faktor; auf diesem Gebiet sind die Bedürfnisse von Handel und Industrie für echte Schnellmethoden bei weitem noch nicht erfüllt.

Résumé

Le choix d'une méthode «rapide» se justifie le plus souvent plus par des arguments économiques (temps de travail moins important) plutôt que par un véritable gain de temps d'analyse. Ce raisonnement se vérifie en particulier pour toutes les méthodes dites de screening, qui sont idéales pour trier rapidement un grand nombre d'échantillons en un groupe de négatifs et un groupe de positifs. Les seconds devant alors faire l'objet d'une analyse plus détaillée afin de confirmer – et souvent de quantifier – le résultat qualitatif de la méthode rapide. Les cas où le temps effectif d'analyse est vraiment le critère déterminant se situent dans le domaine des contrôles finaux bactériologiques et en particulier pour les produits prêts à l'emploi (salades fraîches, plats pré-cuisinés, etc...). Dans ce domaine, les méthodes rapides sont rares mais correspondent à un réel besoin.

Summary "Fast Analytical Methods in Food Processing and Trade: Applications and Requirements"

A small number of selected examples is discussed to illustrate that the choice of a so called fast method does not always and automatically depend on the time factor. The prime reason to choose such a method is often economical: fast methods need

usually less manual work than classical methods and are therefore cheaper. The best applications can be found where a fast screening method helps to sort out presumably positive samples from a large number of negatives, in order to reduce the number of samples to be analysed by work-intensive confirmatory methods. However, time plays a decisive role in microbiological product-release tests. In this field there is still a large demand for much faster methods than those which are available to-date.

Key words

Fast methods, Timely analyses, In-process analyses, Classical quality control, Product release analyses

Literatur

- 1 Trucksess, M.W., Stack, M.E., Nesheim, S., Albert, R.H. and Romer, T.R.: Multifunctional column coupled with liquid chromatography for determination of aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ in corn, almonds, Brazil nuts, peanuts, and pistachio nuts: Collaborative Study. *J. AOAC Int.* **76**, 1512–1521 (1994).
- 2 Schweizerisches Lebensmittelbuch, Kapitel 54: Toxische Stoffe natürlichen Ursprungs, Methode 1.1.: Aflatoxine B&G, Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale Bern 1992.
- 3 Raugel, P.J.: Rapid food analysis and hygiene monitoring. Springer 1999, ISBN 3-540-63253-0, p. 425; Veratox Testkit; Neogen Corporation; siehe auch <http://www.neogen.com/veraafatoxin2.htm>
- 4 Charm II Test; Bioway GmbH, Bahnhofstrasse 60, CH-4132 MUTTENZ; siehe <http://www.charm.com>
- 5 AOAC International: Method Validation and Technical Programs <http://www.aoac.org/ri/overview.htm#ELEMENTS>

Dr. R. Battaglia, SQTS – Swiss Quality Testing Services, P.O. Box 252,
CH-8953 Dietikon 1

Schnellmethoden in der Lebensmittelanalytik: Möglichkeiten und Grenzen – Eine Übersicht*

Reinhard Matissek, Lebensmittelchemisches Institut (LCI) des Bundesverbandes der Deutschen Süßwarenindustrie e.V., Köln

Einleitung

Diese Arbeit gibt einen Überblick über *Schnellmethoden in der Lebensmittelanalytik – ihre Möglichkeiten und ihre Grenzen* (1, 2). Die Aufgabe ist nicht ganz einfach, da hinsichtlich des Begriffs *Schnellmethode* bislang keine allgemein gültige Definition vorliegt. Begriffsbestimmung und Abgrenzung gestalten sich komplex und schwierig, da es verschiedene Interpretationsmöglichkeiten zu berücksichtigen gilt, die (eigentlich) alle relativ sind und unterschiedlichen Philosophien entspringen. Hinzu kommt, dass das Adjektiv *schnell* in unserer heutigen Zeit in Form eines Präfix gern als Werbeargument – eben auch im Bereich der Analytik – angewendet wird und deshalb einer gewissen Erosion und Unschärfe unterliegt.

Im Rahmen dieses Beitrags sollen nur solche Schnellmethoden berücksichtigt werden, bei denen chemische und physikalisch-chemische Messprinzipien eine Rolle spielen; d.h. mikrobiologische und rein physikalische Verfahren bleiben ausgeklammert.

Charakterisierung und Abgrenzung

Bei Durchsicht der Literatur fällt auf, dass man ein vielfältiges Spektrum an Verfahren und Prozeduren, die als Schnellmethoden bezeichnet werden, findet. Zwei Beispiele sollen die Breite und Tiefe des gesamten Spannungsfeldes stellvertretend für die Gesamtheit der verschiedenen Methoden substantiieren:

Verfahren zur Bestimmung von Sr-90 in Milch – Schnellmethode

Bei dieser Methode (3) handelt es sich um eine Extraktion des aus Strontium-90 (Sr-90) gebildeten Tochternuklides Yttrium-90 (Y-90) aus der veraschten Probe mit

* Vortrag gehalten an der 112. Jahresversammlung der Schweizerischen Gesellschaft für Lebensmittel- und Umweltchemie, Muttensz, 1. September 2000

Tributylphosphat, anschliessender Zwischenfällung als Hydroxid, Umwandlung in das Oxalat und Messung der β -Aktivität mit einem Antikoinzidenzzähler mit sehr niedriger Nulleffektzählrate. Die Angaben zum Zeitaufwand werden in der Originalarbeit (3) angegeben wie folgt: «Eine Arbeitskraft kann in 1,5 Tagen parallel mindestens 3–4 Sr-90-Analysen durchführen.» Bei oberflächlicher Betrachtungsweise kann dies als recht lang für eine Schnellmethode angesehen werden. Zur besseren Einschätzung ist es jedoch wichtig zu wissen, dass empfindliche und genaue Sr-90-Analysen ausserordentlich arbeits- und zeitaufwendig sind und zudem sehr viel chemisch-analytisches Know-how erfordern. Die übliche Sr-90-Bestimmung nimmt deshalb zwei bis drei Wochen in Anspruch, wobei der Hauptteil auf die Einstellung eines zur Messung günstigen Verhältnisses Sr-90/Y-90 entfällt (4).

Schnellmethode zur Bestimmung von Diethylenglykol in Wein

Das Prinzip dieser Methode (5) beruht auf der Extraktion von Diethylenglykol (DEG) mit Chloroform und anschliessender Bestimmung nach kapillar-gaschromatographischer Trennung mittels Massenspektrometrie (Selected Ion Monitoring, SIM-Technik). Die Methode ist neben ihrer Schnelligkeit auch ausgesprochen empfindlich sowie spezifisch. Die Nachweisgrenze liegt bei 0,2 mg DEG/l Wein. Andere Verfahren (6–8) sind entweder weniger empfindlich und damit weniger aussagekräftig oder zeitaufwendiger. Bemerkenswert ist zudem die Begründung des Autors (5) zur Einordnung als Schnellmethode, in der neben dem Hinweis auf eine hochorganisierte Ablaufplanung auch auf den besonderen Stellenwert von Teamarbeit eingegangen wird: «Mit der beschriebenen Methode lassen sich von einem Team relativ schnell grosse Serien an Wein auf DEG untersuchen. Einen hohen Stellenwert nimmt hier die Organisation der Probenannahme, des Analysenablaufs im Labor und die anschliessende Einzelbefundauswertung ein.» Zeitaufwand: ca. 0,5 h.

Die von der Methodik und Problematik her sicherlich interessanten Beispiele können an dieser Stelle analytisch vertiefend nicht näher behandelt werden. Stellvertretend für viele andere, in der Literatur oder in der Laborsprache als Schnellmethoden bezeichnete Methoden verdeutlichen sie aber, wie vielschichtig und heterogen sich eine Abgrenzung bzw. Einordnung gestaltet und zeigen dadurch die folgenden, für eine Diskussion wichtigen Ansatzpunkte auf:

1. Obschon Schnellmethoden durch die Zeitgrösse charakterisiert werden, beinhaltet der Begriff *ad definitionem* nicht die Vorgabe eines Zeitlimits.
2. «Schnell» ist offenbar nicht nur eine Frage der Methodik und des Geräteaufwandes, sondern auch eine Frage der Organisation, das geht bis hin zur Automation.
3. Schnellmethoden sind zunehmend auch in der Lebensmittelüberwachung gefragt und nicht nur wie ursprünglich zur Qualitätskontrolle oder bei der Qualitätssicherung bzw. beim Qualitätsmanagement in der industriellen Lebensmittelproduktion. Dies bedeutet einen gewissen Wandel bei der Profilierung der Methoden.

4. Umfang und Diversifikation der analytischen Parameter werden auch weiterhin zunehmen, wobei zusätzlich die Anforderungen an die Qualität der analytischen Aussage steigen. Dies trifft sowohl auf die «normale» Analytik als auch auf die Spurenanalytik zu.

Bei der Charakterisierung des Begriffs *Schnellmethode* und der Standortbestimmung im Spannungsfeld zwischen Möglichkeiten und Grenzen ergeben sich bei systematischer Betrachtungsweise die in den folgenden Abschnitten abgehandelten drei Grundsatzfragen.

Was versteht man unter «Schnellmethode»?

Eine Übersicht über Charakterisierung, Abgrenzung und Begriffsbestimmungen im Bereich *Schnellmethode* gibt die schematische Darstellung in Abbildung 1.

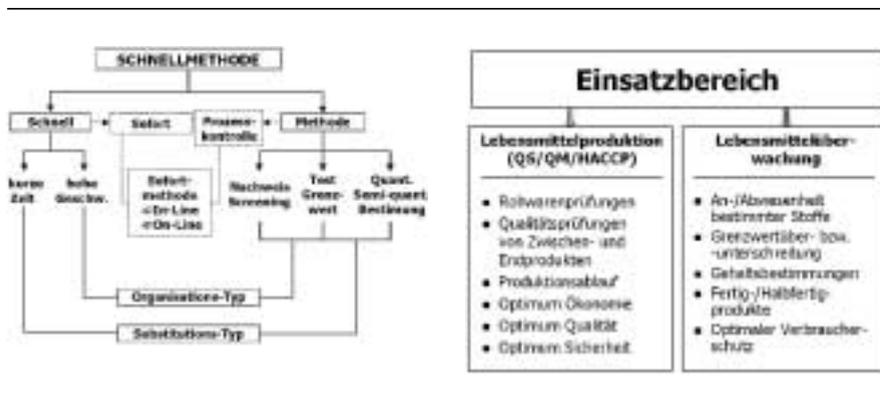


Abbildung 1 Schematische Übersicht zur Charakterisierung des Begriffs «Schnellmethode»

Abbildung 2 Einsatzbereiche und Primärziele der Anwendung von analytischen Schnellmethoden im Lebensmittelbereich

Erläuterungen zum Begriff Methode

Eine Methode ist ein auf einem Regelsystem aufbauendes Verfahren, das zur Erlangung von Erkenntnissen oder praktischen Ergebnissen dient (9). In der Laboratoriumsmedizin wird gemäss DIN 58937 unter *Methode* «das auf bestimmten, nämlich biologischen, chemischen und physikalischen Prinzipien sowie mathematischen Theorien beruhende Analysenverfahren zur Bestimmung von Bestandteilen und Grössen in Untersuchungsmaterialien» verstanden.

In der Analytik versteht man ganz allgemein unter *Methode* den planmässig durchgeführten Gang einer Untersuchung. Diese ist im Normalfall an ein Labor

oder eine laborähnliche Einrichtung gebunden und beinhaltet ausgehend von der Probenahme und -vorbereitung über die eigentliche Messung auch die Befundausswertung. In diesem Fall spricht man von einer Labormethode.

Einige Methoden lassen sich aufgrund ihres Messprinzips auf einfache Art und Weise unabhängig von einem Labor betreiben. Zu nennen sind hier als Beispiele die pH-Messung, die radiometrische Dichtemessung, die refraktrometrische Extraktbestimmung, die Teststäbchenreflektometrie, NIR- bzw. NMR-Messungen, Test-Kits u.a.

Werden Messungen On-line bzw. zerstörungsfreie, das Lebensmittel nicht beeinträchtigende Messungen In-line ausgeführt und in die Produktion integriert, können sie zur kontinuierlichen Prozesskontrolle dienen. Für die Produktionssteuerung im Hersteller- bzw. Verarbeiterbetrieb ist diese Art der Messung sicherlich der anzustrebende – wenn auch seltene – Idealfall einer Schnellmethode, die exakter jedoch als Sofortmethode zu bezeichnen wäre.

Je nach Problemstellung, Konzeption und Ausführung können Analysenmethoden unterschiedliche Aussagekraft besitzen.

Unterscheiden kann man demnach:

- Nachweismethoden und Screeningmethoden
- Tests bzw. Grenzwertmethoden
- Quantitative bzw. semiquantitative Bestimmungsmethoden
- Methoden der Prozesskontrolle

Erläuterungen zum Begriff schnell

Dem Adjektiv *schnell* liegen nach *DUDEEN – Das Wörterbuch der deutschen Sprache* (10) zwei wichtige, jedoch grundsätzlich unterschiedliche Bedeutungen zugrunde:

- innerhalb kurzer Zeit
oder
- mit relativ hoher Geschwindigkeit.

In Bezug auf analytische Schnellmethoden bedeutet das, dass man in Relation zu den herkömmlichen, langwierigen, oftmals amtlichen Analysenmethoden, die ja die Bezugs-/Konventions- bzw. Referenzmethoden darstellen, eine grundsätzliche Unterteilung in zwei Typen vornehmen kann:

1. Methoden, die innerhalb kürzerer Zeit, d.h. durch Austausch oder Umgehung zeitaufwendiger Arbeits- und Verfahrensschritte – meist durch Einführung eines andersartigen Messprinzips – schneller zum Ergebnis führen.
oder
2. Methoden, bei denen das Ergebnis deshalb schneller vorliegt, weil die Durchführung der Untersuchung unter Beibehaltung des zu Grunde liegenden Messprinzips mit höherer Geschwindigkeit vorgenommen wird.

Schnellmethoden-Kategorien

Den erstgenannten Typus von Schnellmethoden kann man als «Substitutionstyp», den letzteren als «Organisationstyp» bezeichnen. Obwohl beide Kategorien das gleiche Ziel – nämlich Schnelligkeit – verfolgen, unterscheiden sie sich grundlegend. Übergänge und Kombinationen sind möglich und durchaus üblich, so dass *in praxi* oftmals ein dementsprechender Mischtyp vorliegt. Eine Sonderstellung nehmen die sog. Multikomponentenmethoden ein, die deshalb eine Schnelligkeit vorweisen bzw. schnell erscheinen, weil sie eine grössere Anzahl von Ergebnissen parallel (gleichzeitig) liefern.

Die angeführten Merkmale sind nicht nur deshalb von Bedeutung, weil sie es gestatten, Schnellmethoden zu klassifizieren und somit letztendlich begrifflich zu bestimmen, sondern weil aus ihnen auch hervorgeht, dass Schnellmethoden – je nachdem zu welchem Typ sie gehören – generell unterschiedliche analytische Aussagekraft besitzen.

Warum und wo werden Schnellmethoden benötigt?

Vor Jahren, als der Gerätepark in der instrumentellen Analytik noch nicht so weit entwickelt war und klassische, meist nasschemische Methoden in den Laboratorien im Vordergrund standen, bei denen häufig grosse analytische Erfahrungen Voraussetzung und beträchtlicher Zeitaufwand unumgänglich waren, wurden Schnellmethoden eingesetzt, da sie durch einfacheres Handling und in der Regel unter Umgehung der üblichen Messprinzipien sowie Vereinfachung der Probenvorbereitung in kürzerer Zeit Ergebnisse liefern konnten als die Bezugsmethoden. Hierbei handelte es sich dann i.d.R. definitionsgemäss um Schnellmethoden des sog. Substitutionstyps. Abbildung 2 gibt in einer kurzen Zusammenstellung Auskunft über die zwei wesentlichsten Einsatzbereich für analytische Schnellmethoden.

Lebensmittelproduktion

Eine Notwendigkeit zum Einsatz von Schnellmethoden wurde zunächst für die innerbetriebliche Qualitätskontrolle/Qualitätssicherung bzw. das Qualitätsmanagement bei der industriellen Lebensmittelproduktion gesehen, denn hier werden biologische Rohstoffe verarbeitet, die natürlichen Schwankungen unterworfen sind. Durch schnellstmögliche Bestimmung der wertbestimmenden Bestandteile der Rohstoffe bzw. Zwischen- und Endprodukte soll ein entsprechender Einfluss auf die laufende Produktion möglich sein, um bezüglich der Qualität optimale Wirtschaftlichkeit zu erzielen. Hinzu kommt ferner die Frage nach schneller Prüfung auf eventuell vorhandene unerwünschte Stoffe, nach Authentizität, Herkunft, Behandlung usw.

Lebensmittelüberwachung

Im Zuge des immer grösser werdenden Anfalls an Proben – auch unter Umweltaspekten – und der gleichzeitigen Zunahme der analytisch zu bestimmenden Para-

meter ist ein Interesse für Schnellmethoden ebenso im Bereich der Lebensmittelüberwachung vorhanden. Hier gilt nicht nur die amtliche, sondern auch die freiberufliche Seite. Aufgrund lebensmittelrechtlicher bzw. toxikologischer Aspekte ist es oftmals wichtig, schnelle Aussagen über die An- oder Abwesenheit einer bzw. mehrerer Substanzen zu erhalten.

Da im Laufe der Entwicklung der Lebensmittelanalytik die Bestimmung von definierten Einzelsubstanzen – auch gemeinsam oder simultan – mehr und mehr in den Vordergrund getreten ist, sind hier vornehmlich moderne, instrumentelle Methoden von Interesse, die durch zeitoptimierte Weiterentwicklung, Automatisierung bzw. bessere Organisation bekannter Messverfahren so getrimmt werden, dass schnellere, zugleich jedoch exakte und empfindliche Aussagen ermöglicht werden. Diese Schnellmethoden sind im wesentlichen dem Organisationstyp zuzurechnen.

Welche Parameter sollen bzw. können von Schnellmethoden erfasst werden?

Eine umfassende Beantwortung einer derart komplexen Frage kann im Rahmen eines Übersichtsreferats nicht gegeben werden, da sich dieses Gebiet einerseits in ständiger Entwicklung befindet und andererseits ein zu erstellender Katalog zudem äusserst umfangreich – und immer noch unvollständig – wäre. Verwiesen sei jedoch diesbezüglich auf ein kürzlich erschienenes Werk, in dem einmal der Versuch unternommen wurde, «Kits, Instrumente und Systeme» im Bereich der schnellen Lebensmittelanalyse und des Hygienemonitorings zusammenzutragen (11).

Zu bedenken ist ferner, dass es oftmals mehrere analytische Wege zur Bestimmung der interessierenden Parameter gibt, so dass eine Einzelaufzählung nicht angebracht ist (vgl. hierzu u.a. (12)). Im Folgenden wird deshalb eine methodenorientierte Darstellung favorisiert, d.h. nicht das zu analysierende Objekt steht im Vordergrund der Betrachtung, sondern die Methode.

Schnellmethoden des Substitutionstyps

Für die Qualitätssicherung bzw. für das Qualitätsmanagement im Herstellungsbetrieb ist nach wie vor die Ermittlung der wertbestimmenden Bestandteile und wichtiger qualitäts-, gesundheits bzw. hygienerrelevanter Eigenschaften bzw. Parameter der Lebensmittelrohstoffe und Endprodukte von ganz erheblicher Bedeutung.

Bestandteile wie Trockensubstanz, Extrakt, Dichte sowie Fett, Eiweiss, Kohlenhydrate u.a. sind analytisch gesehen jedoch Summenparameter, die durch die Anwendung von Bezugs-/Konventions- bzw. Referenzmethoden definiert sind. Eine schnellere Analyse dieser Summenparameter ist praktisch durch ein Beschleunigen des Arbeitsablaufs unter gleichzeitiger Beibehaltung des vorgegebenen Messprinzips nur in Ausnahmefällen möglich, so dass besondere Geräte entwickelt wurden, die die genannten Summenparameter auf Basis vereinfachter bzw. vereinfachender alternativer Messanordnungen ableiten. Die folgenden tabellarischen

Zusammenstellungen (Tabellen 1 und 2) geben einen Überblick über häufig zu bestimmende analytische Hauptqualitätsmerkmale und die Messprinzipien der ange-

Tabelle 1

Schnellmethoden des Substitutionstyps – Beispiele

<i>Parameter</i>	<i>Messprinzip Bezugs-/ Konventionemethode</i>	<i>Schnellmethode</i>
Feuchtigkeit/ Trockensub- stanz/Extrakt	Gravimetrie nach thermischer Trocknung im Trockenschrank	Gravimetrie nach IR- bzw. Mikro- wellen(MW)-Trocknung Refraktometrie Konduktometrie Dielektrometrie NIR/Mikrowellen(MW)-Messgeräte NMR
Dichte	Pyknometrie	Radiometrie
Fett	Gravimetrie nach Lösemittel- extraktion mit oder ohne Säure-/Alkaliaufschluss: Weibull-Stoldt, Röse-Gottlieb, Schmid-Bondzynski-Ratzlaff, Soxhlet	Densitometrie Refraktometrie Volumetrie Röntgenabsorption Radiometrie NIR/MIR CM-Extraktion NMR
Eiweiss	Massanalyse nach Aufschluss und Destillation: Kieldahl	Direktdestillation Farbbindemethoden Dynamische Spontanverbrennung NIR/MIR

Tabelle 2

Schnellmethoden des Substitutionstyps – Beispiele (Forts.)

<i>Parameter</i>	<i>Messprinzip Bezugs-/ Konventionemethode</i>	<i>Schnellmethode</i>
Kohlenhydrate	Reduktionsmethoden: Luff-Schoorl, Polarimetrie	NIR/MIR HPLC Enzymatik (z.B. mit Bio-Enzymatik- sensoren) Pikrinsäuremethode
Weitere Qualitäts- merkmale	Diverse Spezialmethoden: z.B. bzgl. Identität/Authentizität, Frische/Sicherheit, Zusammensetzung, Fremdkörper etc.	NIR Enzymatik Teststäbchen-Reflektometrie Ionenselektive Elektroden NMR Röntgenscanner Sensoren/Chips u. v. a. m.

wandten Methoden (Beispiele). Die angeführten Schnellmethoden verkörpern dabei vornehmlich den Substitutionstyp.

Ermittlung von Trockensubstanz-/Extraktgehalt/Dichte

Bezugsmethoden sind die gravimetrischen Bestimmungen nach thermischer Trocknung im Trockenschrank; für Dichtemessungen die Pyknometrie (12–16). Als Schnellmethoden können genannt werden:

1. Gravimetrische Differenzmessung: Jedoch wird die Wärmeübertragung, die bei den Konventionenmethoden im Normalfall im Trockenschrank vornehmlich mittels Wärmeleitung und Konvektion erfolgt, substituiert durch die schnellere Erwärmung durch Strahlung wie Mikrowellen- bzw. Infrarot-Strahlen (vgl. (14) Bd. II/2 S. 17).
2. Unterwassergewichtsbestimmung: Trockensubstanzgehaltsbestimmung über die Ermittlung des Unterwassergewichts bei Kartoffeln (Chips-/Sticksindustrie) (17).
3. Refraktometrie: Messung des Brechungsindex und Rückschluss auf den Extrakt- bzw. Trockensubstanzgehalt (Lösungen, Flüssigkeiten) (18).
4. Konduktometrie: Ermittlung des Wasseranteils durch Messung der elektrischen Leitfähigkeit von Proben (vgl. (14) Bd. II/2 S. 34).
5. Dielektrometrie: Messung der Dielektrizitätskonstante als Maß für den Wassergehalt in Proben (vgl. (14) Bd. II/2 S. 34) (19).
6. Coulometrie: Nach thermischer Extraktion (Ofen) des Wassers wird dieses selektiv mit einem sehr empfindlichen coulometrischen Sensor (P_2O_5 -Messzelle) bestimmt. Damit ist die exakte Bestimmung der verschiedenen Wasserfraktionen, wie Oberflächenwasser, Kapillarwasser und Kristallwasser möglich (chemische und pharmazeutische Produkte, Kunststoffe) (20).
7. NIR: Reflektionsmessung (21–29).
8. Mikrowellenmessgeräte: Analog zur NIR-Technik wird die Eigenschaft des Wassers, Mikrowellen einer bestimmten Wellenlänge zu absorbieren, ausgenutzt; Messzeit: ca. 1 Sekunde (z.B. Ölsaaten, Kakaobohnen, Kakaopulver, Kakaobutter, Kakaomasse, Zucker, Zuckerarten, Marzipan, Fruchtsaftkonzentrate, Aromen, Proteine, Pektin u.a.) (30–32).
9. NMR (Kernmagnetische Resonanzspektroskopie): Bestimmung des Feuchtigkeitsgehaltes in diversen Lebensmitteln und Lebensmittelrohstoffen (z.B. Ölsaaten, Milchprodukte, Süßwaren, Cerealien) (32–36).
10. Radiometrie: Dichtebestimmung durch Absorptionsmessung von Gamma-Quanten. Als Quelle dient Am-241 (Zucker-, Getränke-, Milch-, Stärkeindustrie; zur Prozesskontrolle) (37, 38).

Ermittlung des Fettgehaltes

Bezugsmethoden sind die gravimetrischen Bestimmungen nach Extraktion mit einem geeigneten Lösungsmittel, die je nach Probenmaterial mit oder ohne vorge-

schaltetem Säure- bzw. Alkaliaufschluss vorgenommen werden. Bekannt sind diese Methoden unter den Namen ihrer Entwickler z.B. Weibull-Stoldt, Röse-Gottlieb, Schmid-Bondzynski-Ratzlaff bzw. Soxhlet (12–16). Hier gibt es eine Fülle verschiedener Schnellmethoden:

1. Densitometrie: Gemessen wird die spezifische Dichte eines Lösungsmittel-Fett-Gemisches mit Hilfe eines Auftriebkörpers (Lebensmittel, Fleischwaren) (39).
2. Refraktometrie: Gemessen wird der Brechungsindex eines α -Bromnaphthalin-Fett-Gemisches (Kakaoerzeugnisse, Süßwaren, Fleischwaren) (40).
3. Volumetrie: Messung des Volumens des Fettanteils bei Hackfleisch nach thermischem Ausschmelzen (41). *Bei Milch*: Auch die von Gerber bereits im Jahre 1892 als Schnellmethode für die Praxis entwickelte, im Lauf der Jahrzehnte immer wieder neu überarbeitete Bestimmung des Fettgehalts von Milch und Milcherzeugnissen gehört hierher. Gemessen wird das Fettvolumen im Butyrometer nach Freisetzung durch Schwefelsäureaufschluss und anschließender Zentrifugation (42).
4. Röntgenabsorption: Diese Methodik wird eingesetzt bei Fleisch «wie gewachsen» (ca. 7 kg Probe). Gemessen wird die Absorption von Röntgenstrahlen beim Durchgang durch die Probe. Fett ist mineralarm, daher erfolgt eine geringere Absorption, je höher der Fettanteil der Probe ist (43, 44).
5. Radiometrie: Gemessen wird das Verhältnis von inelastischer und elastischer Streustrahlung (Compton-, Rayleighstreuung) bei Verwendung eines Am-241-Strahlers («weiche Gamma-Strahlen»; Am = Americium), (Fleischerzeugnisse, fetthaltige Lebensmittel) (45).
6. NIR/MIR: Reflektionsmessungen von nicht absorbierter Strahlung definierter Wellenlängen im nahen (NIR: 750...2500 nm) bzw. mittleren (MIR: 2500...aufwärts) Infrarotbereich (verschiedene Lebensmittel). Sehr interessantes Verfahren bei immer wiederkehrenden Probenotypen (21–29, 46).
7. NMR: Mit üblicherweise eingesetzten Kernresonanz-Impuls-Spektrometern wird die Anwesenheit paramagnetischer Atomkerne, meist Protonen, ausgemessen. Relaxationszeiten können u.a. Auskunft geben über feste und flüssige Fettanteile in einer Probe (z.B. Fette, Kakaobutter: SFI = Solid Fat Index/Festfettanteil) (35–38, 47–53).
8. CM-Extraktion: Isolierung des Gesamtfettes aus Lebensmitteln mit Chloroform-Methanol-Extraktion und anschließender gravimetrischer Bestimmung (54).
9. Caviezel[®]-Methode: Nach Extraktion mit simultaner alkalischer Verseifung des Fettes der Probe werden die Fettsäuren aus den Fettsäurekaliumsalzen freigesetzt und mittels Gaschromatographie (gepackte Säulen) nach der Methode des Internen Standards bestimmt. Die Methode ist geeignet für Proben mit Fettgehalten zwischen 0,2–100% (55).

EXKURS NIR-Spektrometrie (NIRS) (56)

Die Anwendung spektrometrischer Analysen in Nahen Infrarot-Bereich (800–2500 nm) hat in den vergangenen Jahren erheblich an Bedeutung gewonnen. Dies liegt sicherlich in dem wesentlichen Vorteil begründet, dass die Messungen vielfach ohne Probenvorbereitung ausgeführt werden können. Hinzu kommt als weiterer Vorteil, dass die Daten unmittelbar zur Verfügung stehen, so dass NIRS-Systeme hervorragend zur Prozesskontrolle und -regelung bei der Lebensmittelproduktion eingesetzt werden können. Einen gewissen Nachteil stellen die umfangreichen Kalibrierungs- und Validierungsanalysen dar, da sie sich durch Anwendung der betreffenden Referenzmethoden analytisch recht aufwendig gestalten und für jeden Analyten und jede Probenmatrix individuell zu erstellen sind.

Ermittlung des Eiweissgehaltes

Bezugsmethode ist die massanalytische Bestimmung des freigesetzten Ammoniaks nach Destillation und vorhergehenden Schwefelsäureaufschluss nach *Kjeldahl* (12–16). Als Schnellmethoden sind zu nennen:

1. Direktdestillation: Bestimmt werden die Anteile des Eiweissammoniaks, die ohne Aufschluss bei einer direkten alkalischen Destillation der Probe freigesetzt werden (Milch, Getreide, Saaten) (57).
2. Farbbindemethoden: Ausgenutzt wird die Eigenschaft der Proteine, Farbstoffe zu binden. Es handelt sich um eine photometrische Bestimmung des nicht durch Eiweiss gebundenen Farbstoffüberschusses. In der Milchuntersuchung ist diese Analyse als Amidoschwarzmethode bekannt (58).
3. NIR/MIR: Reflektionsmessungen (diverse Lebensmittel) (21–28, 46).
4. Dynamische Spontanverbrennung: Freigesetzter Stickstoff wird an einer GC-Säule gereinigt und als Peak mit einem Wärmeleitfähigkeitsdetektor gemessen (Rohprotein, diverse Lebensmittel) (59).

Ermittlung des Kohlenhydratgehaltes

Bezugsmethoden sind die alten Reduktionsmethoden (z.B. nach Luff-Schoorl), polarimetrische Methoden oder in neuerer Zeit auch enzymatische Methoden (12–16) (siehe Tabelle 2). Folgende Schnellmethoden sind von Bedeutung:

1. NIR/MIR: Reflektionsmessungen (diverse Lebensmittel) (21, 23–30, 45, 54).
2. HPLC: Bei der Hochleistungs-Flüssig-Chromatographie werden die Kohlenhydrate (Zucker) aufgetrennt und dadurch einzeln erfasst (60–67).
3. Enzymatische Methoden: In einigen Fällen sind die Schnellmethoden z.T. selbst die Bezugsmethoden. Es handelt sich um sog. UV-Testsätze. Gemessen wird die Änderung der UV-Absorption photometrisch nach einer enzymatischen Umsetzungsreaktion (66, 68).
4. Pikrinsäuremethode: Erfassung der reduzierenden Zucker (Glucose, Fructose) in Kartoffeln für die Chipsindustrie mittels Farbreaktion und speziellem (LOVI BOND)-Komparator. Die Werte stimmen weitgehend mit den über die enzymatischen Methoden ermittelten Gehalte überein (17).

Weitere Qualitätsmerkmale

Zur Bestimmung von verschiedenen weiteren Qualitätsmerkmalen kommen äusserst unterschiedliche Methoden in Betracht. Im Folgenden soll eine begrenzte Auswahl von Schnellmethoden angegeben werden:

1. NIR: Aus NIR-Messungen können verschiedene Qualitätsmerkmale abgeleitet werden, z.B. für die Beurteilung der Malzqualität von Gerste, die Beurteilung der Backqualität von Weizen sowie der Beurteilung des Stärkeabbaugrades in Mehl (21). Ebenso kann die NIR zur Bestimmung der Ballaststoffe von Weizenkleie herangezogen werden (68).
2. Spezielle enzymatische Testsätze: Diverse Lebensmittel und Parameter (66, 67).
3. Teststäbchen-Reflektometrie: Gemessen wird die Farbintensität von Teststäbchenreaktionen reflektometrisch. Es liegt eine Untersuchung zur Bestimmung von folgenden Inhalts- bzw. Zusatzstoffen in Säften vor: Ascorbinsäure, Kalium, Nitrit/Nitrat, Sulfit (69).
4. Auch die ionenselektiven Elektroden – die sich insbesondere zur Bestimmung von Ionen in Wasser bzw. wässrigen Lösungen eignen – gehören ebenso zu dieser Kategorie wie viele andere Messmethoden mehr.
5. NMR: u.a. Bestimmung der Iodzahl und Schmelzeigenschaften von Fetten und Ölen (36).
6. Röntgenscanner: Zur Fremdkörperkontrolle für Steine, Glas, Knochensplitter, Gräten und Metall (Lebensmittel als lose geschüttete Güter, aber auch in Kartonverpackungen, Umkartons, metallisierte Verpackungen und Dosen) (70).
7. Sensoren/Chips/Sonden: Diese hochinteressanten, innovativen Gebilde stellen ein eigenständiges, auf gänzlich neuer Technologie/Technik basierendes, sich erst entwickelndes Gebiet dar (z.B. Sensor-Arrays zur Ermittlung sogenannter Odour-Maps oder DNA-Chips/Sonden bzw. Bio-Chips/Sonden zur Messung einer grossen Vielzahl von Proben in der biochemischen Forschung und Diagnostik bzw. zur Identifizierung von Mikroorganismen oder Verfälschungsbestandteilen in Lebensmitteln) (71–77).

EXKURS Sensoren

Die Entwicklung und Anwendung von Gassensorarrays hat in den letzten Jahren sprunghaft zugenommen. Eine Vielzahl von Sensoren und Sensorprinzipien ist möglich. Hauptsächlich werden drei Sensorprinzipien unterschieden: BAW-Sensoren (bulk acoustic wave), CP-Sensoren (conducting polymer) und MOX-Sensoren (metaloxide). BAW-Sensoren werden auch als QMB (quartz microbalance)-Sensoren bezeichnet, da sie nach einem gravimetrischen Prinzip arbeiten. Dazu werden piezoelektrische Kristalle mit Materialien, wie sie auch in der GC-Analytik verwendet werden, beschichtet. Durch Absorption von Molekülen über die Gasphase ändert sich dann die Sensormasse, was zu einer Abnahme der Resonanzfrequenz führt und als Detektorsignal herangezogen werden kann. Sensoren auf Basis von leitfähigen Polymer können unterteilt werden in selbst leitfähige Polymerisate mit aufgebrachtener funktioneller Schicht und in solche, die durch Einlagerung von Kohlenstoffpartikel leitfähig werden. Vermutlich sind Quellvorgänge und Ladungstransfer durch die

Gasmoleküle für die Änderung der Leitfähigkeit (Messprinzip) verantwortlich. MOX-Sensoren mit n-leitenden Halbleitern basieren auf einer Redoxreaktionen, die sich auf der Sensoroberfläche bei hoher Temperatur zwischen den Gasmolekülen und dem Sensorwerkstoff abspielt. Gemessen wird die Änderung des Widerstands durch die gebildeten Ladungsträger.

EXKURS DNA-/Bio-Chips (77)

Mit der DNA-/Bio-Chiptechnik bietet sich die Möglichkeit, grosse Probenzahlen durch Hybridisierungen an immobilisierten Sonden gleichzeitig zu analysieren und auszuwerten. Besonders für die biochemische Forschung und Diagnostik eröffnen sich den Expertenmeinungen zufolge viele, schnelle Anwendungen, wo bisher nur eine Reihe von langwierigen und teuren diagnostischen Verfahren zum Einsatz kommt. Allerdings steckt trotz der vielen Entwicklungen auf diesem Gebiet die DNA-Chiptechnik noch in den Kinderschuhen. Der Einsatz von DNA-/Bio-Chips zur Identifizierung von (pathogenen) Mikroorganismen und aus bestimmten Gründen interessierende Anwesenheit von Lebensmittelrohstoffen (z.B. Verfälschungsnachweis) befindet sich derzeit ebenfalls noch im Entwicklungs- bzw. teilweise bereits im Erprobungsstadium.

Grundsätzlich lassen sich zwei Verfahren zur Herstellung von DNA-Chips unterscheiden. Zum einen können Oligonukleotide beispielsweise mit photolithographischen Techniken an der Chipoberfläche synthetisiert werden, und zum anderen koppelt man vorher hergestellte Oligonukleotide oder DNA-Fragmente an die Chips. Bevorzugte Trägermaterialien für die Chips sind Glas, Kunststoff, mitunter auch Silicium, Gold oder poröse Nylonmembranen. Die gängigste Detektionsmethode in der DNA-Chiptechnik ist die Messung von Fluoreszenzsignalen. Dazu müssen sowohl die Proben-DNA-Fragmente als auch die immobilisierten Nukleotide mit Fluoreszenzfarbstoffen markiert sein. Bevor die zu analysierende Probe auf den Chip gegeben wird, registriert ein Computer die genaue Position der auf dem Chip befestigten Oligonukleotide. Nach dem Zugeben der Probe hybridisieren dann die DNA-Stränge: Adenin bindet mit Thymin, Cytosin an Guanin und umgekehrt. Der Computer (mit hochauflösender Laserkamera) registriert die Lichtimpulse des Chips unter fluoreszenz-anregender Strahlung und setzt aus ihnen ein Bild z.B. eines unbekanntes Gens zusammen.

Die Firma Interactiva Biotechnologie in Ulm hat z.B. einen modularen Biochip «XNA on Gold» entwickelt, der auf einer 24karätigen Goldschicht von der Dicke eines zehntausendstel Millimeters eine sich selbst ausrichtende, langkettige Thioalkanschicht gekoppelt enthält, an die wiederum Streptavidinmoleküle gebunden sind. Über freie Bindungsstellen für Biotin kann Streptavidin nicht nur biotinylierte Nukleinsäuren, sondern auch Saccharide oder Peptide immobilisieren, so dass auf den Bio-Chips alle gängigen Biomoleküle binden können. Auf der Fläche eines Mikroskopobjektträgers ist Platz für zwei mal 96 Probenpunkte.

Fazit zum Substitutionstyp

Beim Vergleich der Ergebnisse von herkömmlichen Methoden mit denen von Schnellmethoden des Substitutionstyps sind evtl. systemimmanente Unterschiede in der Genauigkeit und Empfindlichkeit zu konstatieren. In der Regel bedeuten die zwingend notwendigen Kalibrierungsmessungen einen grossen Aufwand. Sind die Messfehler («Messunterschiede») nach Art und Grösse bekannt, kann das in einer entsprechenden Korrektur bzw. Kalibrierung berücksichtigt werden. Diese Schnell-

Methoden sind in der Regel auf eng umrissene oder spezielle Einsatzgebiete, oft auch auf bestimmte Konzentrationsbereiche beschränkt, was bei der Kontrolle in der Lebensmittelherstellung jedoch kein Nachteil ist, da die Matrix der Rohstoffe und Produkte bekannt und in der Art weitgehend konstant ist.

Zu beachten ist jedoch, dass den Methoden Grenzen u.a. durch stattfindende Reaktionen gesetzt sein können, wie z.B. bei der Anwendung der Wärmestrahlen-trocknung (IR), wo besonders kohlenhydrathaltige Lebensmittel zu inter- und intramolekularer Wasserabspaltung bei eventuell möglicher lokaler Überhitzung neigen (78).

Schnellmethoden des Organisationstyps

Bei der Lebensmitteluntersuchung – wie sie z.B. von der amtlichen Überwachung und ihr gleichgestellten Stellen durchgeführt wird – ist in der Regel die Erfassung vieler verschiedener Parameter erforderlich. Die Liste der zu ermittelnden Substanzen ist äusserst umfangreich und heterogen und umfasst neben den Hauptbestandteilen der Lebensmittel auch Minorbestandteile wie Vitamine, Enzyme, Mineralien sowie weiterhin Zusatzstoffe und Kontaminanten bis hinab in den Spurenbereich.

Bekanntlich ist in bestimmten Fällen die Anwendung von amtlichen Methoden vorgegeben, jedoch besteht auf vielen Gebieten der Bedarf einer schnellen Analytik. Eine umfassende Aufzählung ist verständlicherweise nicht möglich, da hier das gesamte Gebiet der Lebensmittelanalytik abzudecken ist, so dass nur einige wichtige Methoden herausgegriffen werden können.

Tabelle 3 enthält Angaben über Schnellmethoden des Organisationstyps. Die Methoden sind nach dem Grundprinzip der Messungen geordnet und enthalten jeweils ein oder mehrere Anwendungsbeispiel/e.

Chromatographie

1. Bei der Very-High-Speed Liquid Chromatography (VHS-LC) ist der Hinweis auf die sehr hohe Geschwindigkeit bei der Durchführung der Methode bereits in der Bezeichnung enthalten. Trennungen, d.h. Analysen liegen innerhalb nur weniger Minuten vor (79–82).
2. Automatisierte HPLC-Systeme befinden sich zur Zeit von vielen Firmen im Angebot. Insbesondere werden derartige Systeme für eine schnelle Aminosäureanalytik propagiert (83, 84). HPLC-Systeme lassen sich aber fast universell einsetzen (62, 63, 65, 83, 85). Auch die Ionen-Chromatographie mit ihren verschiedenen Varianten gehört hierher (65, 86, 87).
3. Prozess-Gaschromatographie (88).
4. Bei der Head-Space-Gaschromatographie (HS-GC) ist eine schnellere Analytik deshalb möglich, weil der «Kopfraum» einer Probe direkt in das chromatographische Trennsystem eingebracht wird und dadurch eine in der Regel obligatorische Probenaufarbeitung entfällt (89–91).

Tabelle 3

Schnellmethoden des Organisationstyps – Beispiele

<i>Grundprinzip</i>	<i>Schnellmethode</i>	<i>Anwendungsbeispiele</i>
Chromatographie	Very High Speed LC Auto.-HPLC-Systeme Head Space GC Flash Chromatography	Konservierungsstoffe Aminosäuren Aromastoffe/flüchtige Verb. Isolierung/Probenaufbereitung
Spektrometrie/ Spektrophotometrie	Fourier-Transform-Technik Dioden-Array-Technik ICP-AES GC/MS-Organisation Spezial-Photometer	Identifizierung/Spektren Identität/Spektren Multi-Elementanalyse Diethylenglykol Verschiedenes
Photometrikombi- nation mit Enzymatik/ Farbreaktionen u.a.	Zentrifugalanalysator Flow Injection Analysis	Organische Säuren/ Kohlenhydrate Diverse
Colorimetrie	Test-Kits (Farbkarten/ Farbkomparatoren)	Wasseranalytik
Amperometrie	Titrier-Automaten (z.B. KF)	Wassergehalt
Kjeldahl-Methode	Kjel-Foss-Automatic*	Proteingehalt

* nicht mehr erhältlich

5. Die Flash-Chromatographie – übersetzt als «blitzschnelle» Chromatographie – ist eine optimierte Niederdruck-Säulen-Chromatographie, die sich insbesondere zur schnellen Probenaufarbeitung für verschiedene Problemstellungen hervorragend eignet (92–94).

Spektrometrie/Spektrophotometrie

1. Die Fourier-Transform-(FT)Technik erlaubt eine wesentlich schnellere Aufnahme von Spektren, da nicht mehr über den gesamten Messbereich sukzessive abgescannt werden muss, sondern aus einem kurzen Messsignal das Spektrum rechnerisch ermittelt wird (25, 95). Ähnlich schnell – wenn auch nach einem anderen Prinzip – arbeiten Dioden-Array-Photometer (96).
2. Die Atomemissionsspektrometrie (AES) mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP) gestattet die simultane Erfassung vieler Elemente, so dass diese Methode bei derartig gelagerten Problemstellungen schnell eine Fülle von Ergebnissen liefert (Multikomponenten-Methode) (96, 98).
3. Auch die Gas-Chromatographie/Massenspektrometrie-Kopplung (GC/MS) in hochorganisierter Form kann im Spezialfall den Schnellmethoden zugeordnet werden (5) (vgl. ferner hierzu (90)).
4. In vielen Laboratorien ist die quantitative Bestimmung von Nukleinsäuren, Proteinen und bakterielle Zelldichte zur Routinemethode geworden. Die dafür zur Verfügung stehenden Spektrophotometer sind überwiegend aufwendig und unnötig zeitraubend in der Bedienung. Neu entwickelte sog. selbsterklärende

und leistungsstarke Spezialphotometer mit extra für diesen Anwendungszweck entwickelten Einmal-Kunststoffküvetten führen zur schnelleren Erledigung der Aufgaben (99).

Photometriekombinationen

1. Von grossem Interesse bei den photometrischen Schnellmethoden ist die Kombination mit der Enzymatik. So gestatten z.B. Zentrifugalanalysatoren (wie der COBAS FARA) die Automatisierung von photometrischen Messungen und sind aus diesem Grund insbesondere zur enzymatischen Analyse gut geeignet (100). Das Prinzip basiert auf der Zentrifugalmischung und anschliessender longitudinaler Messung in rotierenden Küvetten. Die angegebenen Beispiele betreffen die Fruchtsaftanalytik (101).
2. Zu den photometrischen Schnellmethoden kann auch die Kombination von Flow Injection Analysis (FIA, Fliessinjektionsanalyse) mit Photometern als Detektoren gezählt werden. Reaktion und Umsetzungen finden in dünnen Schläuchen (Kapillaren) statt. Die FIA ist besonders für hohen Probendurchsatz geeignet (101–103). Auf diese Weise können enzymatische oder chemische Farbreaktionen automatisiert werden. Die FIA kann aber u.a. auch mit ionenselektiven Elektroden oder der AAS zur Detektion gekoppelt werden.
3. Diese Methoden kommen ursprünglich aus der klinischen Chemie, haben aber bereits verstärkten Eingang in die schnelle Lebensmittelanalytik gefunden.

Colorimetrie

Bei der Colorimetrie sollen vornehmlich Test-Kits angesprochen sein, wie sie vielfach für eine schnelle Charakterisierung bzw. Beurteilung der Wasserqualität Verwendung finden. Hierbei wird häufig mit Farbkarten oder Farbkomparatoren für (semi)-quantitative Aussagen gearbeitet (104, 105).

Weitere Methoden

Von Bedeutung sind ferner Titrierautomaten wie beispielsweise die Karl-Fischer-Automaten zur Wasserbestimmung. Letztendlich gehört auch die automatisierte Kjehldahl-Methode zur schnelleren Eiweissbestimmung zu den Methoden des Organisations-Typs (KJEL-FOSS-Automatic: nicht mehr erhältlich).

Fazit zum Organisationstyp

Da das zu Grunde liegende Messprinzip der herkömmlichen Methode bei Anwendung von Schnellmethoden des Organisationstyps im Grundsatz beibehalten wird, sind die Ergebnisse im allgemeinen gut vergleichbar und ein besonderer Kalibrierungsaufwand ist nicht erforderlich.

Schlussbetrachtung und Ausblick

In einer Allegorie sollen zum Abschluss symbolisch die wichtigsten Stufen der Rechnerentwicklung, die sich sinngemäss auch auf Schnellmethoden übertragen lassen, betrachtet werden (vgl. Abb. 3). Dargestellt ist das Lösen einer komplexen mathematischen Aufgabe mit den Hilfsmitteln:

1. **Papier und Bleistift:** Die zur Rechnung benötigten Hilfsmittel Papier und Bleistift lassen sich auf einer Ebene vergleichen mit den Laborgerätschaften, Reagenzglas und Bunsenbrenner, sind also vom instrumentellen Aufwand her relativ gering. Die Einsatzgebiete sind eigentlich nicht begrenzt, wobei die Schnelligkeit eher gering und die Genauigkeit sowie die Empfindlichkeit bei sorgfältiger Arbeitsweise als gross angesehen werden können.
2. **Rechenschieber:** Viele spezielle Geräte zur Schnellbestimmung gleichen in der Entwicklungsstufe eher dem Rechenschieber – natürlich gibt es Ausnahmen. Konzipiert für spezielle Anwendungen ist der instrumentelle Aufwand deutlich höher, aber nicht sehr gross. Die Methoden sind recht schnell, jedoch relativ «ungenau» und wenig empfindlich. Es fällt auf, dass diese Instrumente in der Regel dem Substitutionstyp zuzuordnen sind.
3. **Elektronischem Rechner (PC):** Durch die weiterführenden Entwicklungen in der Technologie und durch den zunehmenden Einsatz von elektronischen Rechnern (Datenverarbeitung) lassen sich auch im Bereich der Analytik schwierige Probleme sehr schnell, genau sowie empfindlich lösen und ggf. automatisieren. Der instrumentelle Aufwand kann dabei grosse Ausmasse annehmen. Die Einsatzgebiete sind im Prinzip unbegrenzt. Diese Systeme lassen sich eher der Kategorie des Organisationstyps zuordnen.

Rechenart	Rechenmittel	Rechenmethode	Rechenmittel
<ul style="list-style-type: none"> Instrumenteller Aufwand: gering Genauigkeit: hoch Schnelligkeit: gering Einsatzgebiete: universell Rechenleistung: gering 			
<ul style="list-style-type: none"> Instrumenteller Aufwand: hoch Genauigkeit: hoch Schnelligkeit: hoch Einsatzgebiete: spezialisiert Rechenleistung: hoch 			

Abbildung 3 Allegorie – Entwicklung von Rechenmethoden ↔ Schnellmethoden

Akzeptiert man diesen Vergleich, so sollte das für die zukünftigen Möglichkeiten auf dem Sektor der Schnellmethoden bedeuten, dass durch die zu erwartenden High-Tech-Fortschritte auf vielen analytischen Gebieten die Entwicklung noch mehr als schon bisher in Richtung des Organisationstyps tendieren dürfte.

Grundsätzlich sollte man sich jedoch immer wieder klarmachen, dass jeder Analysenmethode Grenzen gesetzt sind, einmal hinsichtlich der Selektivität und Flexibilität, zum anderen im Hinblick auf die Nachweisgrenze und Reproduzierbarkeit. Diese Faktoren sollten vor der Auswahl einer analytischen Methode überdacht und gegeneinander abgewogen werden. Als weitere Entscheidungsgrundlagen kommen neben dem hier im Mittelpunkt des Interesses stehenden Zeitbedarfs nicht zuletzt auch Kostenaspekte sowie umwelt- und arbeitsschutzbezogene Aspekte hinzu.

Häufig sind viele Verbesserungen bezüglich eines schnelleren Arbeitsablaufes aber ganz einfach ohne grosse Änderungen an der analytischen Methodik zu haben: In Labors sind vielfach die Wege zum Messgerät zu lang, und kommt der Anwender dann zum Gerät, ist es entweder nicht eingeschaltet, nicht messbereit oder besetzt, weil ein anderer daran arbeitet. Deshalb kann schon eine vernünftige, optimierte Ausstattung – und damit die Organisation – eines Labors entscheidend zum Faktor *Schnelligkeit* beitragen. So ist es meistens günstiger ausreichend viele Messgeräte eines speziellen Typs zu haben, d.h. mehrere, aber vielleicht einfachere Geräte, als ein einziges Super-Universalgerät.

Zusammenfassung

Schnellmethoden zur Untersuchung und Beurteilung von Lebensmitteln und ihren Rohstoffen gehören nach wie vor zu den aktuellen Themen der anwendungsbezogenen analytischen Chemie und Lebensmittelchemie. Aufgrund von vielen Fortschritten bei den modernen Geräteentwicklungen und in der instrumentellen Analytik sowie der Einführung von Qualitätsmanagementsystemen ist ein steigendes Interesse an derartigen Methoden ungebrochen, ohne dass jedoch klare und einheitliche Vorstellungen darüber existieren, was den eigentlichen Charakter einer Schnellmethode ausmacht.

Die Charakterisierung des Begriffs *Schnellmethode* sowie eine Standortbestimmung im Spannungsfeld zwischen Möglichkeiten und Grenzen wird in dieser Übersichtsarbeit ausführlich und nachvollziehbar vorgenommen. Gemäss der angegebenen Kriterien können zwei Kategorien von Schnellmethoden unterschieden werden: Substitutionstyp und Organisationstyp. Diese Kategorisierung ist hilfreich für ein vertiefendes Verständnis. In der anschliessenden methodenorientierten Darstellung der Leistungsfähigkeit und Anwendbarkeit von Schnellmethoden werden die allgemein wichtigsten Varianten zur Erfassung relevanter Parameter bei der Lebensmittelherstellung bzw. -überwachung referiert und an ausgewählten Beispielen erläutert.

Résumé

Des méthodes rapides pour l'analyse et l'évaluation des aliments et des matières premières qui leurs sont associés font partie des discussions sur les applications de la chimie analytique et alimentaire orientée à ce secteur. Dus aux progrès réalisés dans le développement d'équipement et d'instruments modernes d'analyse, on a pu

remarquer une progression dans l'intérêt porté à ce genre de méthodes malgré le manque d'idée claire et uniforme sur le caractère proprement dit d'une méthode rapide.

Le but de cet exposé est de tenter de caractériser les termes et d'en déterminer la position dans ce complexe conflictuel situé entre possibilités et limites. En accord avec les critères déjà mentionnés, on peut distinguer deux catégories de méthodes rapides: les méthodes de substitution et les méthodes d'organisation. Finalement, les méthodes rapides pour la détermination des paramètres associés à la production et à la surveillance de produits alimentaires sont décrites avec l'utilisation de méthodes représentatives et sont expliquées avec l'appui d'exemples sélectionnés.

Summary "Rapid Methods in Food Analysis: Possibilities and Limits – An Overview"

Rapid methods for examination and evaluation of food and associated raw materials belong to the current topics of the application oriented analytical chemistry and food chemistry. Due to progress in development of modern equipment and instrumental analysis an increasing interest in such methods can be seen, even though no clear or uniform ideas exist on the actual character of a rapid method. This review attempts to characterize the term and to determine its position in the area of conflict between possibilities and limits. According to the above mentioned criteria two categories of rapid methods can be distinguished: the substitution type and the organization type. Finally, rapid methods for determination of relevant parameters in food production and food surveillance are described using method-oriented representations and are explained using some selected examples.

Key words

Rapid methods, Food analysis, Analytical methods, Substitutions type, Organizations type

Literatur

- 1 *Matissek, R.:* Schnellmethoden in der Lebensmittelanalytik – Möglichkeiten und Grenzen. In: Baltes, W. (Hrsg.), Schnellmethoden zur Beurteilung von Lebensmitteln und ihren Rohstoffen, 21–45. Behr's Verlag, Hamburg 1995.
- 2 *Matissek, R.:* Rapid methods for food analysis – Possibilities and limits. In: Baltes, W. (Ed.), Rapid methods for analysis of food and food raw material, S. 21–44. Behr's Verlag, Hamburg 1990.
- 3 Chemisches Untersuchungsamt Hannover: Verfahren zur Bestimmung von Strontium-90 in Milch – Schnellmethode. Methode E-Sr-90-Milch-02-01 (1984).
- 4 *Morfeld, U.:* Private Mitteilung (1986).
- 5 *Kuhlmann, F.:* Schnellmethode zur Bestimmung von Diethylenglykol in Wein. Dtsch. Lebensm.-Rdsch. **82**, 84–85 (1986).
- 6 *Lehmann, G. und Ganz, J.:* Nachweis von Diethylenglykol in Wein. Z. Lebensm.-Unters.-Forsch. **181**, 362 (1985).

- 7 *Führing, D. und Wollenberg, H.:* Zur Bestimmung von kleiner Mengen von Diethylenglykol in Wein I. Dtsch. Lebensm.-Rdsch. **81**, 325–328 (1985).
- 8 *Littmann, S.:* Zur Bestimmung kleiner Mengen von Diethylenglykol in Wein II. Dtsch. Lebensm.-Rdsch. **81**, 328–329 (1985).
- 9 *Drosdowski, G. (Hrsg.):* Duden – Das grosse Wörterbuch der deutschen Sprache. Bd. 4, Bibliographisches Institut, Mannheim 1978.
- 10 *Drosdowski, G. (Hrsg.):* Duden – Das grosse Wörterbuch der deutschen Sprache. Bd. 5, Bibliographisches Institut, Mannheim 1980.
- 11 *Raugel, P.-J.:* Rapid food analysis and hygiene monitoring – kits, instruments and systems. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Hong Kong, London, Milan, Paris, Singapore, Tokyo 1999.
- 12 *Matissek, R., Schnepel, F.-M. und Steiner, G.:* Lebensmittelanalytik. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Paris, Tokyo 1992.
- 13 Bundesgesundheitsamt (Hrsg.): Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG. Beuth Verlag, Berlin, Köln
- 14 *Schormüller, J. (Hrsg.):* Handbuch der Lebensmittelchemie. Springer-Verlag, Berlin 1965.
- 15 *Rauscher, K., Engst, R. und Freimut, U.:* Untersuchung von Lebensmitteln. VEB-Fachbuchverlag, Leipzig 1986
- 16 *Beythien, A. und Diemair, W.:* Laboratoriumsbuch für den Lebensmittelchemiker. Verlag Liedl, München 1970.
- 17 *Putz, B.:* Chips und Sticks aus frischen Kartoffeln. Süsswaren **36:12**, 18–23 (1992).
- 18 *Millies, K., und Bürkin, M.:* Anwendung der Refraktometrie zur Produktkontrolle in Fruchtsaftbetrieben – Messwertkorrekturen. Flüssiges Obst **51**, 629–632 (1984).
- 19 *Ahlgrimm, H.J.:* Zur dielektrischen Bestimmung des Feuchtegehaltes von Lebensmitteln. Z. Lebensm. Technol. Verfahrenstechn. **28**, 305–311 (1977).
- 20 *Grobecker, K.H., Conneely, P., Pertsch, T. und Wagner, R.:* Die umweltfreundliche Alternative zur Karl-Fischer-Tration. LaborPraxis **18**, 84–91 (1994).
- 21 *Kortüm, G.:* Reflexionsspektroskopie. Springer-Verlag, Berlin 1969.
- 22 *Osborne, N.G.:* Principles and practice of near infra-red (NIR) reflectance analysis. J. Food Technol. **16**, 13–18 (1981).
- 23 *Rudzik, L.:* MIR-NIR in Lebensmitteln. GIT Supplement 2/86 Lebensmittelchemie, 30–34 (1986).
- 24 Technicon Instruments, Tarrytown USA (Hrsg.): Infra Alyzer zur Konzentrationsmessung von Inhaltsstoffen durch Reflektionsmessung im NIR. Informationsschrift
- 25 Technicon Instruments, Bad Vilbel (Hrsg.): Infra Alyzer zur Konzentrationsmessung von Inhaltsstoffen. Seifen Öle Fette Wachse **105**, 439 (1979).
- 26 *Meygack, U.:* NIR – Die Ulbrichtsche Kugel sammelt das Licht. Chem. Rdsch. **39:9**, 16 (1986).
- 27 Berwind Instruments, Wheldrake England (Hrsg.): Schnelles Infrarot-Analysengerät für Milch und Molkereiprodukte, Kurzbericht. Z. Lebensm. Technol. Verfahrenstechn. **32**, 152 (1981).
- 28 *Prüfer, H.:* NIR-Spektroskopie – Analytik in nahen Infrarot zur Qualitäts- und Prozesskontrolle. Kontrolle Nr. 5, 11–13 (1986).
- 29 Polytec, Waldbronn (Hrsg.): Applikationsbericht: On-line-Bestimmung des Fett- und Wassergehaltes in der Produktion von Milchprodukten. APKAT/TASONST; KATRINA Protonics On-line Process Monitoring & Control, Fully Solid State with Fiber Optics. Informationsschrift (1991).
- 30 *Sitzmann, W., Engel, W. und Weber, K.:* Die Bedeutung der on-line Feuchtemessung bei der Ölsaatenverarbeitung. Fat. Sci. Technol. **94**, 561–566 (1992).
- 31 *Krahl, T.:* Mikrowellen-Analysensysteme helfen Kosten sparen – Schnelle Feuchtigkeitsbestimmung. Kontrolle Nr. 9, 46 (1994).

- 32 Tews Elektronik, Hamburg: Mikrowellen-Feuchtemessgerät MW 2300 für den Prozess- und Laboreinsatz. *Kakao+Zucker* 46:7+8, 5 (1994).
- 33 Bruker Analytische Messtechnik, Rheinstetten (Hrsg.): Minispec. pc 100. Informationsschrift NMR/B 401/2/10.91 (1991).
- 34 Bruker Analytische Messtechnik, Rheinstetten (Hrsg.): An introduction to analytical applications of low resolution NMR; Minispec. Application Note 30.
- 35 Bruker Analytische Messtechnik, Rheinstetten (Hrsg.): Minispec. pc 100–Typical applications food industry. Informationsschrift NMR/B 1001/2/5/92 (1992).
- 36 Oxford Instruments, Abingdon, England (Hrsg.): QP 20–Pulse NMR for Quality Control. Informationsschriften (1992).
- 37 *Sprissler, G.*: Genehmigungsfreie radiometrische Dichtemessung mit Am-241. *Z. Lebensm. Technol. Verfahrenstechn.* 29, 315–317 (1978).
- 38 Berthold Kernstrahlungsmessgeräte für Industrie, Wissenschaft und Medizin, Wildbad (Hrsg.): Radiometrische Dichtemessanlagen. Informationsschriften (1980–1984).
- 39 *Montag, A.*: Zur densitometrischen Fettbestimmung in milcheiweißreichen Erzeugnissen mit dem FOSS-LET-Gerät. *Dtsch. Lebensm.-Rdsch.* 69, 470–472 (1973).
- 40 *Fincke, A.*: Handbuch der Kakaoverzeugnisse, 428. Springer-Verlag, Berlin 1965.
- 41 Hobart Maschinen, Offenburg (Hrsg.): Fett-Tester Mod. F-101. Informationsschrift PR-1074-080, Heft 1–6/4 (1978).
- 42 DIN 10310 (1970): Bestimmung des Fettgehaltes von Milch nach dem Gerber-Verfahren. Vgl. (13) L01.00-8 (1981).
- 43 *Seffelaar & Looyen*, Odenzaal Holland (Hrsg.): Anly-Ray/Bestimmung des Fettgehalts eines Fleischmusters mit X-Strahlen; *Selo Bulletin* Ablage 12 5-5-71-1 (1978).
- 44 *Madigan, J.J.*: Grundlagen für Fleischanalysen und Standardisierung des Rohmaterials; Informationsschrift Anly-Ray Corporation, Waltham, Massachusetts, USA (1978).
- 45 *Schätzler, H.P. und Kühn, W.*: Zerstofffreie Schnellbestimmung des Fettgehaltes von Fleisch und anderen fetthaltigen Nahrungsmitteln. *Lebensmittelchem. Gerichtl. Chem.* 32, 126–128 (1978).
- 46 *Buckenhüskes, H., Harrer, M. und Gierschner, K.*: Quantitative Bestimmung von Inhaltsstoffen in Schokoladenmassen mit Hilfe von NIR-Messungen. *Lebensmittelchem. Gerichtl. Chem.* 40, 40–41 (1986).
- 47 Bruker Analytische Messtechnik, Rheinstetten (Hrsg.): Minispec. p 20. Informationsschrift (1979).
- 48 *Weisser, H.*: NMR spectroscopy in the food industry; Bruker Application Note (1979).
- 49 *Kohn, R.*: Anwendung der Kernresonanz-Spektroskopie in der Lebensmittelanalytik. *Fette Seifen Anstrichm.* 68, 795–798 (1966).
- 50 *McCarten, J.*: Fat analysis in margarine base products. Bruker Application Notes (1979).
- 51 *Van Putte, K.*: Pulse NMR as routine method in the fat and margarine industry I–III. Bruker Application Notes (1979).
- 52 *McCarten, J.*: Determination of the fat content and solid-to-liquid ratio in cocoa products with the minispec p 20 NMR Process Analyzer. Bruker Application Note (1979).
- 53 *Foord, E. und Denker, D.*: Neue Entwicklungen zur Messung des Gesamtfettgehaltes in Kakao und Schokoladenprodukten; *Lebensmittelchemie* 54, 37 (2000).
- 54 *Hallermayer, R.*: Eine Schnellmethode zur Bestimmung des Fettgehaltes in Lebensmitteln. *Dtsch. Lebensm.-Rdsch.* 72, 356–359 (1976).
- 55 *Gertz, C. und Fiebig, H.-J.*: Determination of fat content by Caviezel® method (rapid method). *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 102, 154–158 (2000).
- 56 *Bünig-Pfaue, H., Harder, J. und Diller, M.*: Aktueller Entwicklungsstand und Perspektiven von NIRS; *Zucker- und Süßwarenwirtschaft ZSW* 53, 54–57 (2000).

- 57 *Schmütz, W. und Do, Q.N.*: Eiweiss-Schnellbestimmung mit dem Direktdestillations-Verfahren. *Dtsch. Lebensm.-Rdsch.* **75**, 398–400 (1979).
- 58 *Kiermeier, F. und Lechner, E.*: *Milch und Milcherzeugnisse*, 256. Verlag Paul Parey, Berlin 1973.
- 59 *Fisons Instruments, Mainz-Kastel (Hrsg.)*: NA2000 Stickstoff- und Proteinanalysator, Einfach die beste Alternative zur Kjeldahl-Methode. *Informationsschrift 88725039G, NA 2000 FL(G)-06/93* (1993).
- 60 *Bauer, H., Quast, H., Shalaby, A. und Rocek, P.*: HPLC von Kohlenhydraten; *LaborPraxis Spezial '86 Chromatographie Spektroskopie*, 64 (1986).
- 61 *Millipore Corporation, Eschborn (Hrsg.)*: Kohlenhydratanalyse in sechs Minuten; *Waters Aktuell Ausgabe Nr. 6*, 4 (1986).
- 62 *Macrae, R.*: Applications of high pressure liquid chromatography to food analysis. *J. Fd. Technol.* **15**, 93–96 (1980).
- 63 *Fogy, I., Fioresi, C., Schmid, E.R. und Markl, P.*: HPLC in der Lebensmittelanalytik. *Kontakte (Merck) Nr. 2*, 24 (1980).
- 64 *Galensa, R.*: Components in foods with a high carbohydrate content. *Siehe (65) 87–117* (1992).
- 65 *Matissek, R. and Wittkowski, R. (Hrsg.)*: *High performance liquid chromatography in food control and research*. Behr's Verlag, Hamburg 1992.
- 66 *Boehringer, Mannheim (Hrsg.)*: *Methoden der enzymatischen Lebensmittelanalytik*. *Informationsschrift* (1980).
- 67 *Boehringer, Mannheim (Hrsg.)*: *Die enzymatische Lebensmittelanalytik*. Heft 1–6/4.
- 68 *Horvath, I., Norris, K.H., Horvath-Mosonyi, M., Rigo, J. und Hegedüs-Voölgnesi, E.*: Untersuchung zur Bestimmung der Ballaststoffe von Weizenkleie nach dem NIR-Verfahren. *Acta Alimentaria* **13**, 355 (1984); *Ref. in Z. Lebensm.-Unters.-Forsch.* **182**, 76 (1984).
- 69 *Schwedt, G.*: Teststäbchen-Reflektometrie für Ascorbinsäure, Kalium, Nitrat/Nitrit und Sulfid in Lebensmitteln. *Dtsch. Lebensm.-Rdsch.* **82**, 111–116 (1986).
- 70 *DK-Kälteanlagen, Emsdetten*: Fremdkörperkontrolle mit Röntgenscannern. *Der Lebensmittelbrief* **11**, 81 (2000).
- 71 *AromaScan, Grewe, UK (Hrsg.)*: *AromaScan – Intelligente Sensor Technologie*. *Informationsschrift* (1994).
- 72 *Schmid, R.D. und Bilitewski, U.*: Biosensoren; *Chemie in unserer Zeit* **26**, 163–173 (1992).
- 73 *Bucsis, L.*: Analytik mit Biosensoren. *LaborPraxis* **19**, 56–60 (1995).
- 74 *Bucsis, L.*: Ergebnisse in 90 Sekunden – Schnellbestimmung von Zuckern mit Biosensoren. *Süßwaren* **40**, 27 (1996).
- 75 *Bucsis, L.*: Schnelle Lebensmittelanalytik mit Biosensoren. *CLB Chemie in Labor und Biotechnik* **48**, 230–233 (1997).
- 76 *Bucsis, L.*: Biosensorische Schnellanalytik von Süßwaren. *Zuckerindustrie* **123**, 502–504 (1998).
- 77 *Kerk, A.*: DNA-Chips: Diagnostik vom Fließband? *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **47**, 777–779 (1999).
- 78 *Untze, W.*: Zur Einrichtung eines Betriebslabors und zur Durchführung von lebensmittelchemischen Untersuchungen. In *Florin, U. and Lehmann, D. (Hrsg.)*: *BDL-Spectrum 1*, 151ff. Behr's Verlag, Hamburg 1982.
- 79 *Dicesare, J.L., Dong, M.W. und Ettre, L.S.*: Very-high-speed liquid chromatography I. The system and selected applications. *Chromatographie* **14**, 257–268 (1981).
- 80 *Dicesare, J.L., Dong, M.W. and Atwood, J.G.*: Very-high-speed liquid chromatography II. Some instrumental factors influencing performance. *J. Chromatogr.* **217**, 369–398 (1981).
- 81 *Dong, M.W. and Dicesare, J.L.*: Very high-speed liquid chromatography III. Quantitative Analysis of Parabens in Cosmetic Products. *J. Chromatogr. Sci.* **20**, 49–54 (1982).
- 82 *Matissek, R.*: *Modern HPLC – fundamentals and developments*. *Siehe (65) 19–61* (1992).

- 83 Millipore Cooperation, Eschborn (Hrsg.): Hochempfindliche Analyse physiologischer Aminosäuren. *Waters Aktuell*, Ausgabe Nr. 6, 4 (1986).
- 84 Hewlett-Packard, Bad Homburg (Hrsg.): Automatisierte Methode für die Bestimmung von Aminosäuren. *PEAK 8*; Nr. 2/3, 5 (1986).
- 85 Schwedt, G.: Spezielle HPLC-Techniken in der Lebensmittelanalytik. *LaborPraxis 8*, 1028–1032 (1984).
- 86 Franklin, G.O.: Development and applications of ion chromatography. *International Laboratory 15:6*, 56–68 (1985).
- 87 Harrison, K., Beckham, W.C., Yates, T. and Carr, C.D.: Rapid, cost-effective ion chromatography. *International Laboratory 16:3*, 90–94 (1986).
- 88 Clauss, F., Mahler, H. und Maurer, T.: 15 Jahre Kapillarsäulen in der Prozess-Gaschromatographie. *LaborPraxis 17*, 50–53 (1993).
- 89 Kolb, B.: Anwendung der Headspace Analysis. *LaborPraxis 6*, 4–8 (1982).
- 90 Wittkowski, R. and Matissek, R. (Hrsg.): *Capillary gas chromatography in food control and research*. Behr's Verlag, Hamburg 1992.
- 91 Vieths, S.: Headspace gas chromatography of highly volatile compounds. Siehe (90) 277–324 (1992).
- 92 Still, W.C., Kahn, M. and Mitra, A.: Rapid chromatographic technique for preparative separations with moderate resolution. *J. Org. Chem. 43*, 2923–2924 (1978).
- 93 Matissek, R. und Häußler, M.: Flash-Chromatographie – Eine schnelle Niederdruck-Säulenchromatographie zur Trennung präparativer Probenmengen. *Dtsch. Lebensm.-Rdsch. 81*, 50–52 (1985).
- 94 Seifert, J.: Flash-Chromatographie. *CLB Chemie in Labor und Biotechnik 45*, 411–413 (1994).
- 95 Oelichmann, J. und Rau, A.: Mikro-Methoden in der FTIR-Spektroskopie. *LaborPraxis 10*, 958–961 (1986).
- 96 Owen, T. und Emmert, J.: Diodenarray-Technik für Routineanalysen. *LaborPraxis 10*, 1512 (1986).
- 97 Schrader, W., Grobrenski, Z. und Schulze, H.: Einführung in die AES mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP). Heft 28, *Angewandte Atom-Spektroskopie (Perkin-Elmer)* 1981.
- 98 Kahn, H.L.: AAS oder ICP – Jede Technik hat ihre eigenen Vorteile. *Kontrolle 2*, 11–14 (1983).
- 99 Benecke, R.: Spektroskopie – Die neue Generation in der quantitativen Analytik. *GIT Labor-Fachzeitschrift 44*, 844–847 (2000).
- 100 Hoffmann-La Roche, Basel (Hrsg.): *Cobas FARA – Eine neue Dimension der Zentrifugalanalyse*. Informationsschrift 1984.
- 101 Scheuermann, C., Fischer-Ayloff-Cook, K.P. und Hofsommer: Ausgewählte moderne Laborgeräte für Fruchtsaftbetriebe. *Confructa Studien 30*, 162–164 (1986).
- 102 Möller, J.: FIA – Eine neue Analysenmethode. *LaborPraxis 6*, 278–283 (1982).
- 103 Hansen, E.H.: Recent advances in flow injection analysis. *International Laboratory 15:8*, 14–17 (1986).
- 104 Merck, Darmstadt (Hrsg.): *Schnelltest Handbuch*. Informationsschrift 1985.
- 105 Koch, E.: Schnelltests zur Umweltanalytik. In: Fresenius, W./Günzler, H./Huber, W./Lüderwald, I./Tölg, G./Wisse, H. (Hrsg.): *Analytiker-Taschenbuch*, Bd. 5, 183–197. Springer-Verlag, Berlin 1985.

Prof. Dr. Reinhard Matissek, Lebensmittelchemisches Institut (LCI) des Bundesverbandes der Deutschen Süßwarenindustrie e.V., Adamsstrasse 52–54, D-51063 Köln

Pestizid-Screening mit GC/MS: Schnelle Entscheidungsfindung für den Vollzug*

Markus Zehringer, Kantonales Laboratorium Basel-Stadt, Basel

Wandel in der Rückstandsanalytik

Das Spektrum der in der Landwirtschaft verwendeten Pestizide hat sich in den letzten Jahren stark verändert. Viele der persistenten Organochlorpestizide sind heute durch abbaubare Wirkstoffe ersetzt worden. Insbesondere die Anreicherung in Organismen führte zum Verbot zahlreicher chlorierter Verbindungen. Ein neuer Wirkstoff muss heute strenge Kriterien erfüllen, bis er zugelassen wird. Moderne Pestizide, wie z.B. Pyrethroide, Carbamate und Triazolfungizide, unterscheiden sich strukturell von den klassischen Organochlorpestiziden. Viele dieser neuen Wirkstoffe enthalten wenige oder gar keine Chloratome, die Strukturen sind polarer usw. Dies hat nicht nur Konsequenzen bezüglich ihres Umweltverhaltens (gute Abbaubarkeit, geringe Akkumulation in Organismen usw.), sondern auch für den Analytiker.

Während die klassischen Organochlorpestizide und polychlorierten Biphenyle (PCB) mühelos mit Elektroneneinfang-Detektion (ECD), Organophosphorsäureester mit flammenphotometrischer Detektion (FPD) usw. nachweisbar sind, lassen sich die neuen Molekülstrukturen mit den klassischen Detektionsarten oft schlecht oder gar nicht detektieren.

Einerseits sind also spezifische und empfindliche Detektionsmöglichkeiten für die neuen Wirkstoffklassen gefragt, andererseits sind hinsichtlich der Breite des Wirkungsspektrums universelle Detektionsarten erwünscht. Diese Forderung nach Universalität und Empfindlichkeit führt uns automatisch zur Massenspektrometrie (MS). Seit einigen Jahren gehört der massenspektrometrische Detektor zur Grundausrüstung in Rückstandslaboratorien. Die Kopplungstechnik GC-MS hat sich mancherorts bereits zur Routineanalytik gewandelt. Die heutigen MS-Detektoren erlauben die sowohl empfindliche und selektive Detektion von Substanzen als auch eine breite Übersichtsanalyse von GC-gängigen Pestiziden in vielen Matrices. Die

* Vortrag gehalten an der 112. Jahresversammlung der Schweizerischen Gesellschaft für Lebensmittel- und Umweltchemie, Muttenz, 1. September 2000

MS-Technik erlaubt zudem das Aufspüren und Identifizieren von unbekanntem Wirkstoffen und Metaboliten (1).

Dieser Wandel im Instrumentarium der Rückstandsanalytik vollzieht sich auch im Kantonalen Laboratorium Basel-Stadt. Heutzutage kann es sich kein Laboratorium mehr leisten, seine Analysentätigkeit ohne Berücksichtigung von Personal und Kosten zu planen. Der Faktor Zeit spielt zunehmend eine wichtige Rolle bei der Entwicklung bzw. Optimierung neuer Analysenverfahren. Gefragt sind Analysenstrategien zur kostengünstigen Bewältigung der Analysenaufträge.

Pestizid-Screening von Früchten und Gemüse

Am folgenden Beispiel soll verdeutlicht werden, worin heute das Problem der Kontroll- und Vollzugslaboratorien in der Rückstandsanalytik liegt.

Das EPRW'98 Melonen-Experiment

Anlässlich des European Pesticide Residues Workshop in Almeria fand ein kleiner Ringversuch mit spanischen Melonen statt, an dem sich sieben Laboratorien beteiligten. Zwei verschiedene Melonen wurden untersucht, die unter streng kontrollierten Bedingungen kultiviert worden waren. Die beteiligten Laboratorien sollten die Früchte mit den im Labor verfügbaren Routinemethoden auf Rückstände untersuchen. In Tabelle 1 sind die applizierten Wirkstoffe aufgeführt. Es handelte sich hierbei um die in Spanien gängige Kultivierungspraxis, bei der eine stattliche Zahl von Wirkstoffen angewendet wird.

Tabelle 1

Das EPRW'98 Melonenexperiment. Das Spektrum der applizierten Wirkstoffe (nach (2))

	<i>Datum der Behandlung</i>	<i>Applizierte Wirkstoffe</i>
<i>Galia Melone</i>	29.3.1998	Abamectin, Imidacloprid, Thiophanat-methyl, Cymoxanil, Mancozeb
	09.4.1998	Kupferoxydchlorid, Kasugamycin, Azadirachtin, Chlorothalonil, Carbendazim, Imidacloprid, Strobilurin, Methomyl
<i>Cantaloup Melone</i>	25.3.1998	Thiophanat-methyl, Cymoxanil, Mancozeb, Pyrifenox
	18.4.1998	Abamectin, Methomyl, Maneb
	28.4.1998	Cymoxanil, Mancozeb, Tetraconazol, Pyriproxyfen, Bacillus Thuringiensis
	07.5.1998	Abamectin, Pyriproxyfen

Die Resultate der sieben Laboratorien waren verblüffend:

Keines der sieben Laboratorien konnte einen in der Tabelle aufgeführten Wirkstoff nachweisen. Dies kann bedeuten, dass die angewendeten Routinemethoden

bezüglich des Erfassungsbereiches der Wirkstoffe unzulänglich oder dass die Wirkstoffe schnell abbaubar und somit nicht mehr nachweisbar sind.

Einige Laboratorien wiesen Endosulfan und Procymidon nach, zwei Wirkstoffe, die nicht appliziert worden waren: Galia Melone: 0,04 bis 0,11 mg/kg Endosulfan, Cantaloup Melone: 0,01 bis 0,04 mg/kg Endosulfan und 0,01 bis 0,03 mg/kg Procymidon (2).

Die nachgewiesenen Wirkstoffe lassen sich dadurch erklären, dass in den verwendeten Gewächshäusern im Jahr zuvor Auberginen gezüchtet wurden, welche mit Endosulfan (August und Oktober 1997) und Procymidon (Dezember 1997) behandelt worden waren. Die Melonen reicherten also diese Wirkstoffe aus dem belasteten Boden an.

Das Beispiel verdeutlicht uns die Notwendigkeit einer möglichst breiten bzw. umfassenden Überwachung auf Wirkstoffe und Metaboliten. Es genügt heute nicht mehr, sich auf die klassischen Wirkstoffe zu konzentrieren. Gefragt ist ein Screening, bei dem eine möglichst breite Palette von Wirkstoffen erfasst werden kann.

Strategie eines Pestizidscreenings in Gemüse und Früchten am Beispiel einer Ringversuchsprobe

Die Vollzugserfahrungen der letzten Jahre im Kantonalen Laboratorium Basel-Stadt führten zu einer neuen Vorgehensweise in der Rückstandsanalytik. Im Rahmen eines Screenings sollen dabei möglichst viele Rückstände detektiert werden können. Anhand einer Birnenprobe aus einem Ringversuch wurde die Tauglichkeit unserer Screening-Strategie überprüft.

Bei der Planung einer Untersuchungskampagne recherchieren wir zuerst nach Rückstandsdaten der letzten Jahre. Dabei werden Daten aus der Schweiz und aus EU-Ländern berücksichtigt (Jahresberichte der kantonalen Laboratorien, jährliche Zusammenstellung des BAG, eigene Datenbank usw.). Gemäss der Zusammenstellung wird das Untersuchungsprogramm festgelegt:

Die am häufigsten nachgewiesenen Wirkstoffe werden als Standardlösungen bereitgestellt und die Analysensysteme (GC-ECD und GC-MS) damit geeicht. Der hier vorgestellten Birnenprobe war eine unbekannte Anzahl von Wirkstoffen in unbekanntem Konzentrationen zugesetzt worden.

Probenvorbereitung für die Screeninganalyse 1 (nach (3))

1. Die Probe wird mechanisch zerkleinert.
2. 25 g Probe werden in ein Zentrifugenglas eingewogen, mit 50 ml Ethylacetat versetzt und während einer Minute (3500 UpM) gemixt.
3. Nach Zentrifugation wird von der Lösungsmittelphase entnommen und mit GC/MS (3 µl split/splitlose Injektion) analysiert.

Resultat der Screeninganalyse 1

Das Full-Scan-Chromatogramm wird nach Rückständen abgesucht. Dabei ist es von Vorteil, mit anderen Chromatogrammen gleicher Matrix zu vergleichen. Matrixverbindungen sind dadurch leichter erkennbar und zusätzliche Einzelpeaks werden sichtbar. Je nach Vorgabe wird zusätzlich auf ausgewählte Rückstände untersucht (GC-ECD, GC-FPD usw.).

In der Birnenprobe konnten Iprodion, Penconazol, Vinclozolin, Metalaxyl, Propargit und Monocrotophos mittels Spektrenvergleich aus den verfügbaren Spektrenbibliotheken zweifelsfrei nachgewiesen und deren Konzentration abgeschätzt werden (die Konzentrationsangaben sind der Abb. 1 zu entnehmen).

Für die genaue Quantifizierung werden in einem nächsten Schritt Lösungen der nachgewiesenen Wirkstoffe in einem Extrakt derselben, jedoch wirkstofffreien Matrix hergestellt und das GC/MS-Gerät kalibriert.

Probenvorbereitung 2 für die Screeninganalyse konzentrierter Probenextrakte

10 ml des zuerst gewonnen Ethylacetatextrakts werden am Rotavap aufkonzentriert. Es folgt eine Reinigung des Extrakts über eine Amino-Festphasenkartusche. Das Endvolumen beträgt 0,5 ml, wovon 1 µl in den GC injiziert werden.

Resultat der Screeninganalyse 2

Die GC/MS-Analyse erfolgt im Full-Scan-Modus. In der derart aufkonzentrierten und gereinigten Birnenprobe konnten zusätzlich Procymidon und Methidathion durch Spektrenvergleich aus den verfügbaren Bibliotheken nachgewiesen werden. Die Quantifizierung erfolgt analog der Screeninganalyse 1. Die Konzentrationen von Procymidon und Methidathion wurden zu je 0,07 mg/kg ermittelt (siehe Abb. 2).

Mit Hilfe des hier vorgestellten GC/MS-Screenings konnten in einer Ringversuchsprobe mit in Zahl und Art unbekannter Dotierung von Wirkstoffen deren acht qualitativ und quantitativ korrekt nachgewiesen werden. Im Falle zweier weiterer Wirkstoffe war die Methode nicht erfolgreich: 0,07 mg/kg Tolclofos-methyl sowie 0,23 mg/kg Carbaryl blieben unentdeckt. Im Falle des Carbaryl, einem Methylcarbamatinsektizid, wurde lediglich dessen Abbauprodukt β -Naphthol (0,05 mg/kg) nachgewiesen. Die Gaschromatographie ist aufgrund der Thermolabilität der Verbindungen für Carbamate ungeeignet. Die Resultate des beschriebenen Ringversuchs wie auch des Melonenexperimentes zeigen klar auf, dass einige Wirkstoffklassen wie Phenylharnstoffe, Sulfonylharnstoffe, Phenoxyalkancarbonsäuren usw. mit GC nicht direkt zugänglich sind und sich somit weitgehend einem schnellen GC/MS-Screening entziehen (Tabelle 2).

Deshalb sind Bestrebungen im Gange, das GC/MS-Screening mit einem zusätzlichen LC/MS-Screening zu erweitern. Erste Versuche in dieser Richtung sind erfolgversprechend.

Massenspur-Chromatogramme zu Screeninganalyse 1

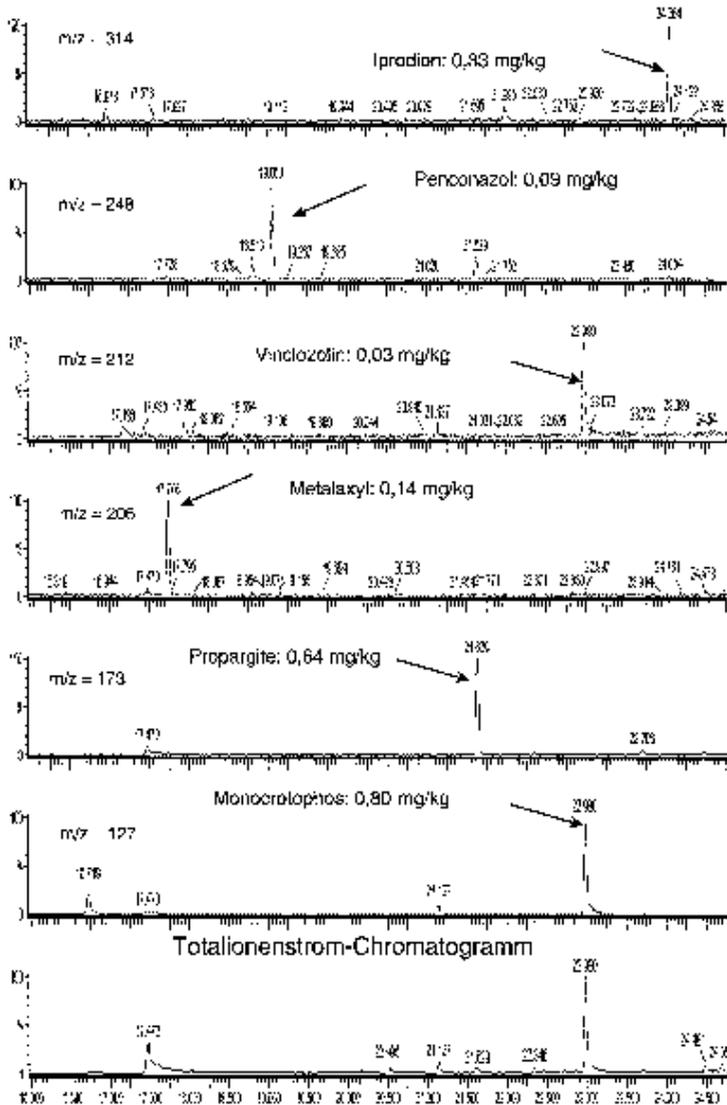


Abbildung 1 GC/MS-Analyse der Birnenprobe (Screening 1). Oberhalb des Totalionenstrom-Chromatogramms sind die einzelnen, spezifischen Massenspuren dargestellt

Massenspur-Chromatogramme zu Screeninganalyse 2

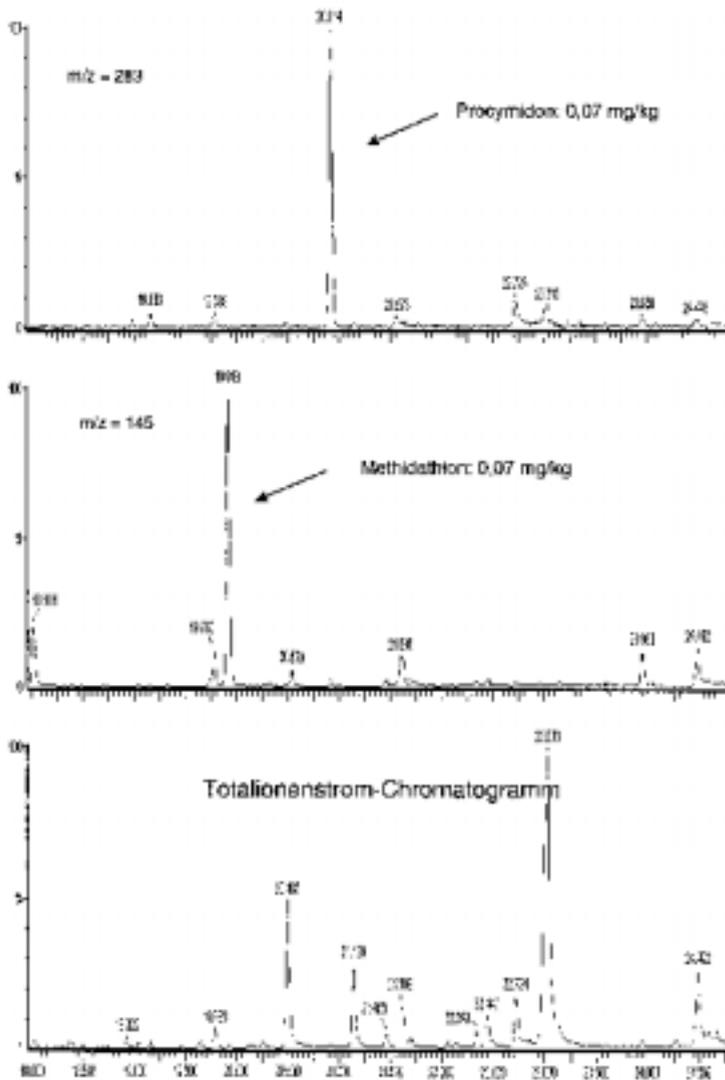


Abbildung 2 GC/MS-Analyse der gereinigten, aufkonzentrierten Birnenprobe (Screening 2). Über dem Totalionenstrom-Chromatogramm sind die beiden spezifischen Massenspuren für Procymidon und Methidathion dargestellt

Tabelle 2

Vergleich der Resultate des Kantonalen Labors (KL BS) mit den Mittelwerten aller Laboratorien (RV). Ringversuchsprobe: Birnenprobe der proficiency study 156 (4). Alle Werte in mg/kg Frischgewicht

Wirkstoff	Probe 1		Probe 2	
	KL BS	RV	KL BS	RV
Iprodion	0,33	0,39	0,3	0,40
Penconazol	0,09	0,14	0,09	0,11
Vinclozolin	0,03	0,04	0,03	0,04
Metalaxyl	0,14	0,30	0,14	0,23
Propargit	0,64	0,83	0,64	0,72
Monocrotophos	0,7	0,75	0,7	0,71
Procymidon	0,07	0,06	0,05	0,05
Methidathion	0,07	0,09	0,07	0,08

Die vorgestellte GC/MS-Screening-Strategie wurde bereits im Routinebetrieb getestet: im Rahmen der letztjährigen Wintersalatkampagne wurden während drei Wochen 67 Proben gezielt auf Dithiocarbamate (photometrische Summenbestimmung von CS₂), 25 Fungizide (GC/ECD), 12 Methylcarbamate (LC/MS) sowie mittels GC/MS-Screening untersucht. Die beanstandeten Fungizide Procymidon, Mepronil und Oxadixyl wurden mit GC/MS nachgewiesen und quantifiziert.

Grenzen der Analytik bzw. schnellen Entscheidungsfindung im Vollzug

Die Beanstandungsquote bei Früchten und Gemüse ist seit Jahren rückläufig. Bei der diesjährigen kantonalen Untersuchung mussten in Basel-Stadt beispielsweise sechs von 67 Proben (9%) beanstandet werden, darunter vier Toleranzwertüberschreitungen bei Pflanzenschutzmitteln.

Bei Beanstandungen werden einerseits immer wieder Mängel bei der Rückverfolgbarkeit der Proben bis zum Hersteller sichtbar, andererseits erhalten wir oft Analysenzertifikate über eine Nitratuntersuchung für Proben, die aufgrund einer Toleranzwertüberschreitung eines Fungizids beanstandet worden waren. Für den Zwischenhandel und für die Vollzugsbehörden ist dies eine unbefriedigende Situation. Die Laboratorien müssen mit viel Aufwand die Lebensmittel auf mögliche Rückstände überprüfen. In Frage kommen Hunderte von chemischen Verbindungen.

Dabei wäre das Problem einfacher lösbar. Die Selbstkontrolle des Produzenten beinhaltet nicht irgend eine willkürliche Standardanalyse. Vielmehr sollte sie die Kontrolle auf die tatsächlich eingesetzten Pflanzenschutzmittel zum Ziele haben. Somit könnten Stichproben gezielt auf die entsprechenden Rückstände untersucht werden. Dies würde allen involvierten Kontrolllaboratorien die Arbeit erleichtern und die Kosten senken.

Zusammenfassung

Bedingt durch die Einführung von neuen Wirkstoffklassen haben sich die Anforderungen an die Rückstandsanalytik geändert. Wurden Rückstände (vor allem Organochlorpestizide) früher vorwiegend mit Gaschromatographie und spezifischer Detektion wie beispielsweise der Elektroneneinfang-Detektion (ECD) bestimmt, erfordern die modernen Wirkstoffklassen wie Triazolfungizide und eine Vielzahl von Wirkstoffen, die kein Chlor enthalten (Metalaxyl, Mepronil, Fludioxonil usw.), eine massenspektrometrische Detektion (MS). Zudem verlangt die zunehmende Wirkstoffpalette eine universelle Detektionsmöglichkeit. Die vorliegende Arbeit stellt eine Screeningstrategie für die Rückstandsanalytik pflanzlicher Lebensmittel vor. Dabei wird einerseits mit spezifischen Detektoren gezielt auf Wirkstoffe untersucht, andererseits mit einer GC/MS-Analyse auf weitere Wirkstoffe gescreent. Die Untersuchungsstrategie wird anhand einer Ringversuchsprobe erläutert.

Résumé

Avec l'introduction de nouvelles structures chimiques actives, l'analyse des résidus a dû évoluer. Jusqu'aux années 90 les résidus, surtout les pesticides polychlorés, étaient analysés par chromatographie en phase gazeuse et détection spécifique par capture d'électrons (ECD). La substitution successive des pesticides problématiques par de nouvelles classes de phytosanitaires, par exemple les fongicides à base de triazole et l'introduction de nombreux produits non chlorés (metalaxyl, mepronil, fludioxonil etc.) nécessitent une détection par spectrométrie de masse (GC/MS). Cette technique permet une détection universelle nécessaire pour faire face au nombre croissant de substances actives. Ce travail décrit une stratégie utilisant la GC/MS pour déterminer les résidus multiples dans les aliments d'origine végétale. Cette stratégie est démontrée à l'aide d'un essai interlaboratoire.

Summary "Pesticide Screening with GC/MS: a Powerful Tool for the Implementation of Food Legislation"

The range of pesticides typically applied has changed over the last years. The classical, persistent organochlorine pesticides are substituted more and more with degradable pesticides. While organochlorine pesticides can be detected with electron capture detection (ECD), the new structures require more universal detectors such as mass spectrometry. The latter enables also the identification of unknown and unexpected compounds (screening analysis). This article describes a new strategy in pesticide screening analysis of vegetables and fruits and the application of this method to a proficiency test sample is shown.

Key words

Pesticides, GC/MS, Screening strategy, Food

Literatur

- 1 Roux, B. and Zehring, M.: Strategies in pesticide screening analysis of vegetables and fruit. *Chimia* **53**, 330 (1999).
- 2 Valverde, A., Aguilera, A., Rodriguez, M. and Camacho, F.: The EPRW '98 Melons Experience. Poster at the European Residue Workshop 2000 at York.
- 3 Wäfler, Ch., Glatt, V. und Meier, W.: Rasche und einfache Bestimmung der wichtigsten Fungizide auf Salat. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **72**, 22–30 (1981).
- 4 Inspectorate for Health Protection, Commodities and Veterinary Public Health: Proficiency study 156 – pesticides in minced pears. Report nr. ND-99-18 (1999).

Markus Zehring, Kantonales Laboratorium Basel-Stadt, Kannenfeldstr. 2, Postfach, CH-4012 Basel

Solid Phase Micro-Extraction (SPME) à détection directe, une nouvelle dimension analytique *

Jean-Luc Luisier, Jean-Claude Villettaz, Ramin Azodanlou, Ecole d'ingénieurs du Valais, Sion

Renato Amadò, Ecole polytechnique fédérale, Institut des sciences alimentaires, Zurich

Introduction

Dans un article récent nous avons proposé une méthode pour la mesure globale des composés volatils (1). Cette méthode utilise la SPME (Solid Phase Micro-Extraction) pour adsorber et concentrer les substances volatiles. La SPME, développée par Pawliszyn (2), a été largement utilisée comme technique de concentration pour l'analyse des denrées alimentaires, pour l'analyse environnementale ou dans l'industrie chimique (3). Dans ces méthodes les substances volatiles, concentrées sur la couche adsorbante de la fibre de SPME, sont transférées directement dans l'injecteur du chromatographe où elles sont séparées et détectées. Dans la méthode proposée ici, la colonne chromatographique est remplacée par un capillaire inerte et toute séparation des substances est évitée. On obtient ainsi un seul pic, dont la surface sera proportionnelle à l'ensemble des substances volatiles adsorbées sur la fibre. Or cette teneur est dans bien des cas un paramètre important pour la qualité d'une denrée alimentaire ou d'un produit quelconque.

En analyse alimentaire, il est fréquent de mesurer un paramètre global pour suivre un processus: l'indice de réfraction (teneur en sucre, anciens indices pour les graisses), la constante diélectrique (composants polaires dans les graisses), la conductivité d'une eau potable, l'absorbance UV, le pH, la viscosité sont des mesures globales qui permettent de caractériser un produit, mais toutes ces mesures concernent une propriété d'un liquide ou d'un solide et caractérisent un goût, une texture; aucune de ces techniques n'étudie de propriétés olfactives. La possibilité

* Conférence donnée le 1^{er} septembre 2000 à Muttentz lors de la 112^e assemblée annuelle de la Société suisse de chimie alimentaire et environnementale

d'analyser rapidement les substances volatiles est le but des recherches sur le «nez électronique», dont les succès sont pour l'instant limités (4). La méthode que nous proposons ici va dans la même direction; elle permet de doser quantitativement la teneur en substances volatiles globales. A la différence du «nez électronique», on n'utilise en principe qu'un seul capteur, une fibre SPME. Par contre, s'il s'avère nécessaire d'effectuer des analyses plus poussées, le processus d'échantillonnage développé pour le dosage global que nous proposons, peut être directement appliqué à une analyse chromatographique.

Partie expérimentale

L'appareil de mesure consiste en un injecteur de chromatographie en phase gazeuse dédié à une colonne «wide bore» et un détecteur conventionnel pour chromatographie en phase gazeuse (fig. 1). L'injecteur est équipé d'un septum et d'un insert de verre de 2 mm. Un capillaire de 0,32 mm de diamètre et de 30 cm de longueur relie l'injecteur au détecteur. Le détecteur et l'injecteur peuvent être amenés indépendamment l'un de l'autre à la température désirée. Un flux de gaz inerte entraîne les substances volatiles désorbées vers le détecteur.

Les détecteurs utilisés pour les applications présentées ici sont un NPD (Nitrogen Phosphorus Detector, NPD 800, *Carlo Erba SpA., Milano, Italie*) et un FID (Flamme Ionization Detector, EL 980, *Carlo Erba*), les deux sont utilisés communément en chromatographie en phase gazeuse. Les contrôleurs de gaz pour l'hélium, l'air et l'hydrogène, sont des unités PCU/2 CH/BM UN (*Brechbühler AG, Schlieren Suisse*). Le NPD est utilisé à sa température optimale de 300°C avec les débits

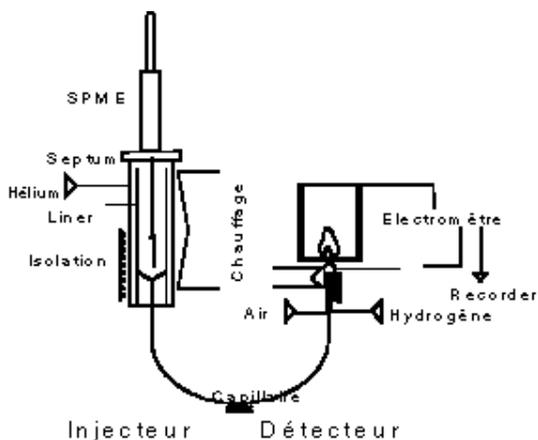


Figure 1 Appareil pour dosage par SPME à détection directe

suivants: hélium 4 ml/min; hydrogène 7 ml/min; air filtré sur piège supelpure HC 22446 (*Supelco, Bellafonte, USA*) 50 ml/min; hélium de make-up, 6 ml/min. Le courant de chauffage est de 2,8A et la tension de polarisation est 3,5V. Le FID est utilisé à 250°C avec les débits de gaz suivants: hélium 2 ml/min; hydrogène 25 ml/min; air filtré 275 ml/min.

Fibres d'extraction: Solid phase Microextraction (SPME): Polydiméthylsiloxane (PDMS) 7 µm No 57302, Carboxen/PDMS (Car/PDMS) No 57318 et PDMS/divinylbenzène (PDMS/DVB) No 57310U (*Supelco, Bellafonte, PA, USA*)

Pour le spectromètre de masse, nous avons utilisé un chromatographe en phase gazeuse HP5890 équipé d'un spectromètre de masse HP5971A (Hewlett Packard, Palo Alto, USA), donc la colonne est remplacée par un capillaire inerte. L'injecteur est utilisé en mode «splitless».

Le signal est interprété à l'aide du programme d'intégration Chromcard Version 1.19 (*Fison Instruments, Rodano, MI, It*).

Mode opératoire

Le mode opératoire est identique à celui appliqué pour les dosages par SPME. Il comprend les étapes suivantes:

- 1 Obtention d'un espace de tête reproductible. Une fiole contenant une quantité déterminée du produit à analyser permet l'utilisation d'un passeur d'échantillon et l'automatisation des analyses. Le temps d'équilibrage de l'espace de tête du récipient varie entre 10 et 60 min.
- 2 Adsorption sur fibre SPME des substances volatiles dégagées dans l'espace de tête. Cette opération prend entre 2 et 30 min selon les limites de détection à atteindre, la nature des substances volatiles et le type de phase stationnaire de la fibre.
- 3 Relargage des volatiles dans l'injecteur, correspondant à une injection en GC. Le relargage est rapide, il dure quelques secondes (fig. 2). Il est cependant nécessaire de maintenir la fibre durant 1 à 2 min dans l'injecteur pour garantir que toutes les substances volatiles soient désorbées.

Le signal obtenu est constitué par un seul pic, dont la largeur à mi-hauteur est de l'ordre de 10 à 25 sec. Dans le cas des huiles essentielles, le pic présente des épaulements, indiquant un processus de désorption complexe.

Exemples d'applications

Pour illustrer les possibilités de la méthode, des exemples d'applications utilisant différents détecteurs courant en chromatographie en phase gazeuse sont donnés ci-après. Pour ces détecteurs, la relation entre la quantité de substance sous le signal et la surface du pic est bien connue: la réponse du FID est linéaire sur une large gamme de concentrations et peu influencée par l'eau, la réponse du NPD n'est pas linéaire en fonction de la concentration, mais cette réponse permet la quantification de substances azotées ou phosphorées de façon très spécifique. Le spectromètre de masse

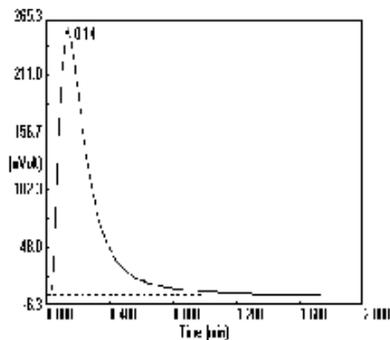


Figure 2 Exemple de signal obtenu pour une solution aqueuse de toluène 100 µg/l (avec un détecteur FID)

permettra non seulement un dosage quantitatif, mais également une détermination qualitative.

La reproductibilité des quantifications avec un passeur d'échantillons et des solutions standards (toluène, triméthylamine etc.) peut être considérée comme bonne, le coefficient de variation d'une série de mesure étant de l'ordre de 2%.

Suivi d'une réaction enzymatique

L'amygdaline est le glycoside cyanogénétique des amandes amères. Lorsque l'amande amère est broyée, l'amygdaline subit une hydrolyse enzymatique en présence d'eau et dégage de la benzaldéhyde, de l'acide cyanhydrique et un sucre, la gentiobiose. La benzaldéhyde est le composant principal de l'arôme du massépain.

Pour déterminer le temps nécessaire à l'hydrolyse de l'amygdaline, nous avons introduit 10 g d'amandes amères finement moulues dans un ballon de 250 ml, ajouté une quantité équivalente d'eau et maintenu le tout à une température de 40°C. A intervalles réguliers, une fibre SPME PDMS a été plongée dans l'espace de tête au dessus du mélange réactionnel durant 2 minutes, puis désorbée dans l'appareil décrit. La surface des signaux obtenus a été reportée en fonction du temps d'hydrolyse dans le graphique de la figure 3. Sur ce graphique, on peut lire qu'un temps de 130 min est nécessaire pour une hydrolyse complète. Pour confirmer ces résultats, la réaction a été suivie en chromatographie en phase gazeuse et a fourni les mêmes résultats. La méthode proposée ici autorise une optimisation rapide des conditions de réaction telle que la température, le temps, la teneur en eau, la granulométrie, le pH.

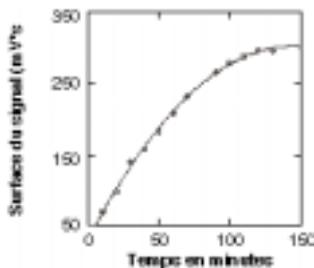


Figure 3 Suivi de l'hydrolyse de l'amygdaline par SPME à détection directe sur détecteur FID

Solvants et hydrocarbures dans l'eau

Le dosage des hydrocarbures illustre bien les avantages et limitations de la méthode proposée. Les méthodes classiques sont relativement longues, la méthode officielle exigeant une extraction au CCl_4 et une mesure par IR. La méthode développée (5) est rapide: pipetter un volume déterminé d'eau à analyser dans un fiole de 22 ml, laisser s'établir l'équilibre dans l'espace de tête de la fiole durant au moins 20 min, adsorber durant 2 min sur une fibre SPME PDMS/DVB et mesurer à l'aide de l'appareil décrit ci-dessus. Cette méthode permet d'analyser en routine 12 échantillons à l'heure. La figure 4 présente les courbes de calibration d'une série de solvants organiques.

Cette méthode permet d'obtenir des limites de quantification de l'ordre des 10 à 20 $\mu\text{g/l}$ pour les BTEX (benzène, toluène, ethylbenzène et xylène), ceci après une extraction de 2 min. Une amélioration de ces limites de quantification est possible, mais elle exige une l'utilisation d'une fibre SPME différente, des temps d'adsorption plus longs et l'optimisation des conditions de travail. La figure 5 décrit le dosage des BTEX à l'aide d'une fibre Carbowax polydiméthylsiloxane (CAR-PDMS) et un temps d'adsorption de 30 min.

Cet exemple met en évidence les caractéristiques de la méthode proposée: le signal obtenu permet de quantifier les hydrocarbures dans l'eau, les limites de détection des différents hydrocarbures sont semblables, le mode opératoire est simple, mais il ne permet pas d'identifier les différents hydrocarbures. S'il est nécessaire d'identifier les hydrocarbures donnant lieu à un signal, la technique d'adsorption utilisée peut être directement appliquée à une analyse chromatographique classique, qui permet l'identification et offre une limite de quantification inférieure à celle obtenue par notre technique.

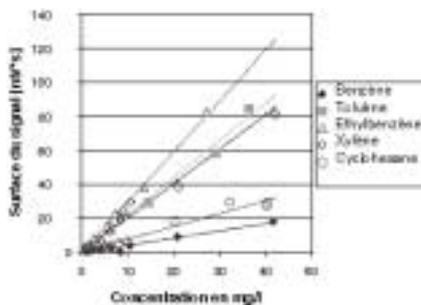


Figure 4 Dosage d'hydrocarbures dans l'eau

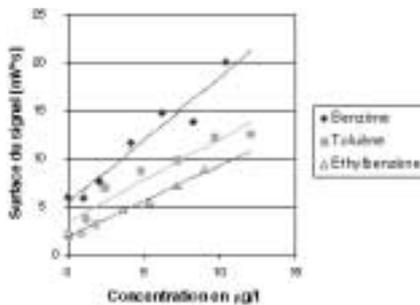


Figure 5 Dosage de traces d'hydrocarbures dans l'eau

Fraîcheur du poisson

Dès après la pêche, le poisson commence à dégager de la triméthylamine (TMA) et de la diméthylamine (DMA) (6). La teneur en amines est un bon indicateur de la fraîcheur du poisson (7) et ce dosage est codifié dans des méthodes officielles comme dosage de l'azote basique volatile total (ABVT). Pour suivre ce phénomène, nous avons choisi un détecteur sélectif des amines organiques et insensible à l'eau, le NPD. Nous avons ainsi suivi l'évolution d'échantillons de saumon conservés à 2°C sur de la glace durant 20 jours (8).

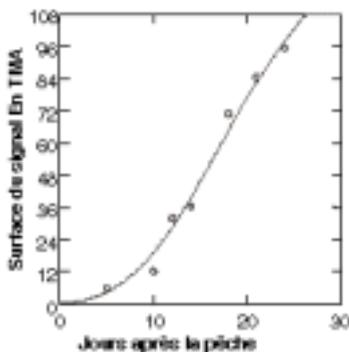


Figure 6 Evolution d'un filet de saumon suivi par SPME à détection directe et un détecteur NPD

Pour le dosage, 1 g de filet de saumon est placé dans un fiole de 22 ml. On ajoute 2 ml de NaOH 40% et on maintient la fiole bien fermée à 70°C durant 15 min.

Lorsque l'échantillon est refroidi, on plonge une fibre SPME (PDMS-DVB) durant deux minutes dans l'espace de tête de la fiole et on désorbe dans l'appareil décrit. La figure 6 montre la relation entre la fraîcheur du poisson (date de pêche présumée) et le signal obtenu, exprimé en TMA. Un résultat semblable a été obtenu par dosage de l'ABVT. La méthode de mesure que nous proposons est très rapide et permet des mesures en grande série.

Huiles essentielles de plantes aromatiques

L'utilisation d'un spectromètre de masse ajoute à l'information quantitative une information qualitative. Cette technique a été utilisée lors d'analyses de génépi (*Artemisia genepi* Weber). Le génépi est une plante aromatique de montagne qui fait l'objet d'une sélection clonale (9) pour en augmenter la teneur en huile essentielle, tout en maintenant faible la teneur en thuyone. En parallèle au dosage des huiles essentielles, nous avons étudié la possibilité de déterminer le chémotype des génépis par SPME à détection directe et un détecteur MS.

Le mode opératoire est le suivant: 100 mg de génépi finement broyé et homogénéisé ont été pesés dans une fiole de 22 ml. Après ajout de 2 ml d'eau, la solution a été maintenue à 90°C durant 1 heure. L'espace de tête a été extrait avec une fibre SPME-PDMS durant 2 min et désorbé dans le spectromètre de masse d'un chromatographe en phase gazeuse muni d'un capillaire sans phase stationnaire de 30 cm. Le signal obtenu consiste en un seul pic, proportionnel à la teneur en huiles essentielles. La technique proposée permet une concentration des substances volatiles suffisante pour obtenir un spectrogramme de masse interprétable. La figure 7 reproduit une partie des spectrogrammes de masse obtenus avec deux clones. La différence principale entre ces deux clones, qui ressort d'une analyse par chromatographie en phase gazeuse effectuée en parallèle, est le rapport entre l' α - et la β -pinène. Dans le spectre

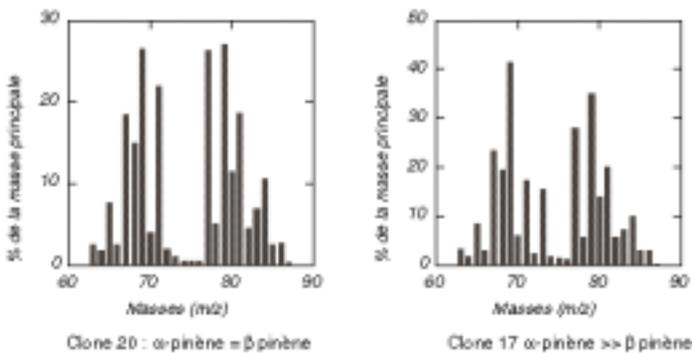


Figure 7 Spectrogramme de masse de deux génépis obtenu par SPME-MS direct

de gauche, les deux composés sont en concentrations semblables, tandis que dans le spectre de droite, la teneur en α -pinène est beaucoup plus importante. Les différences dans les spectres de masse sont particulièrement marquées entre les pics 69, 70 et 71; d'autres différences sont visibles sur ces portions de spectres. Ces différences ne proviennent pas directement de la proportion des α et β pinène, mais bien plus de modification des teneurs d'autres composants entre ces deux clones. Dans ce cas, une analyse mathématique des données (neuronal network) peut être nécessaire pour interpréter correctement les résultats obtenus.

D'autres applications de la technique SPME-directe sont en développement: la mesure de la teneur en huiles essentielles, l'estimation de la neutralité olfactive des emballages, l'optimisation de méthodes de dosage des espaces de tête, le dosage des solvants dans les produits pharmaceutiques etc.

Conclusions

La technique d'analyse proposée permet une analyse quantitative rapide des teneurs en substances volatiles globales dégagées par un processus ou par un produit quelconque. Cette technique se distingue des autres méthodes d'analyses globales qui mesurent la plupart du temps les propriétés d'une solution. Elle se différencie nettement du «nez électronique» par le fait qu'il s'agit d'une simple quantification des substances volatiles et qu'il est possible, au besoin, de doser par des méthodes chromatographiques classiques les composés chimiques responsables du signal obtenu.

Cette technique trouve ses applications principales dans le suivi d'un processus aussi bien dans l'industrie agro-alimentaire, dans l'industrie chimique, que dans les sciences de l'environnement. Par sa simplicité de mise en œuvre, elle se prête bien à des tâches de suivi de fabrication. Un avantage important par rapport au «nez électronique» réside dans le fait que lorsqu'une valeur anormale est décelée, les substances responsables de cette anomalie peuvent être analysées en laboratoire. En outre, très souvent, la mesure des composés volatiles globaux telle que nous proposons permet une mesure de la qualité d'un produit dans un processus.

Remerciements

Cette recherche a pu être développée dans le cadre du projet COST-915 «Amélioration de la qualité des fruits et des légumes adaptée aux besoins des consommateurs» financé par l'Office fédéral de l'éducation et de la science, puis sur la base d'un projet financé par la Commission pour la technologie et l'innovation (CTI).

Résumé

Une nouvelle technique analytique permettant de doser rapidement les substances volatiles est proposée. Selon cette technique, les substances volatiles sont adsorbées sur une fibre SPME et désorbées directement dans un détecteur de chromatographie en phase gazeuse, sans séparation. Différentes applications utilisant un

détecteur à ionisation de flamme, un détecteur azote phosphore et un détecteur à spectrométrie de masse sont présentées: suivi de l'hydrolyse de l'amygdaline, hydrocarbures dans l'eau, odeur du poisson et typisation de l'huile essentielle de génépi.

Zusammenfassung

Eine neue Analysetechnik für die Bestimmung flüchtiger Stoffe wird vorgeschlagen. Bei dieser Technik werden die flüchtigen Substanzen auf eine SPME-Faser adsorbiert und in einem gaschromatographischen Detektor, ohne vorherige Trennung der einzelnen Substanzen, global bestimmt. Anwendungen mit verschiedenen Detektoren werden vorgeschlagen. Es sind: die Optimierung der Hydrolyse der Amygdalin und die Bestimmung von Kohlenwasserstoffen in Wasser mit FID, die Entwicklung von Aminen aus einem Fischstück mit NPD und die Unterscheidung essentieller Öle der *Artemisia Genepi* mit einem massenspektrometrischen Detektor.

Summary "Measurement by SPME without Chromatographic Separation, a new Analytical Dimension"

A new analytical technique allowing for a rapid determination of volatile compounds is presented. This technique makes use of the adsorption of the volatiles with SPME and a direct injection in a gaschromatographic detector without chromatographic separation. Applications are presented using different detectors: a flame ionization detector for measuring the hydrolysis of amygdalin and hydrocarbons in water, a nitrogen-phosphorous detector for estimating the freshness of fish and a mass-spectrometric detector for the differentiation of the essential oils of *artemisia genepi*.

Key words

Benzaldehyde, VOC, Trimethylamine, Fish, SPME, Sensors

Bibliographie

- 1 *Azodanlou, R., Darbellay, C., Luisier, J.-L., Villettaz, J.-C. and Amadò, R.:* A new concept for the measurement of total volatiles of foods. *Z. Lebensm.-Unters.-Forsch. A* **208**, 254–258 (1999).
- 2 *Arthur, C.L., Potter, D.W., Buchholz, K.D., Motlagh, S. and Pawliszyn, J.:* Solid-phase microextraction for the direct analysis of water: Theory and practice. *LC/GC* **10**, 656–661 (1992).
- 3 *Pawliszyn, J.:* Application of solid phase microextraction, Royal Society of Chemistry, Turpin Distribution Services LTD, Blackhorse Road, Letchworth, Hertfordshire, SG6 1HN, UK.
- 4 *Schaller, E., Bosset, J.-O. and Escher, F.:* Electronic nose and their application to food, *Lebensmittelwissenschaft- und Technologie* **31**, 305–316 (1998).
- 5 *Béné, A., Luisier, J.-L. and Fornage, A.:* Monitoring organic volatile compound in water and air at low level by the SPME-direct method (en préparation).

- 6 *Oehlenschläger, J. and Soerensen, N.-K.*: Criteria of seafish freshness and qualities aspects in methods to determine the freshness of fish in research and industry. Proceedings of the Final Meeting of the Concerted Action "Evaluation of Fish Freshness", p. 30. Paris, France 1997.
- 7 *Fiddler, W., Doerr, R. and dan Gates, R.A.*: Gas chromatographic method for the determination of dimethylamine, trimethylamine and trimethylamine oxide in fish-meat Frankfurter. *J. Assoc. Off. Anal. Chem* **74**, 400–403 (1991).
- 8 *Béné, A., Hayman, A., Reynard, E., Luisier, J.-L. and Villettaz, J.-C.*: A new method for the rapid determination of volatile substances: the SPME-direct method Part II: Determination of the freshness of fish. *Sensors and Actuators* (to be published).
- 9 *Rey, Ch. et Slacanin, I.*: Domestication du génépi blanc. *Revue Suisse. Vitic. Arboric. Hortic.* Vol. **29**, I–VIII (1997).

Adresse du correspondant: Dr Jean-Luc Luisier, Ecole d'ingénieurs du Valais,
Route du Rawyl 47, 1950 Sion 2, E-mail: jluc.luisier@eiv.ch

Etude approfondie de la contraction dans les mélanges alcools-eau

Partie 2: Nouvelle méthode pour le calcul, la représentation et l'application de la contraction partielle aux mélanges éthanol-eau

Bernard W. Liebich*, Ostermundigen

Présenté le 25 avril 2000, accepté le 27 octobre 2000

Introduction

Dans le travail précédent (1) la contraction avait été étudiée de manière générale dans les mélanges éthanol-eau, alors qu'elle est examinée ici de manière beaucoup plus détaillée orientée vers l'alcoométrie, puis sera poursuivie ensuite dans le cadre plus large de l'étude de la contraction dans les mélanges d'autres alcools monohydroxylés avec l'eau (2).

La contraction avait été en premier lieu (1) représenté non seulement par rapport au % masse et % volume, mais aussi, ce qui est nouveau, en fonction des % mol. Cette représentation fait apparaître de manière nouvelle pour les mélanges éthanol-eau un maximum de la contraction situé entre 20 et 25 % mol, se trouvant au même % mol que le maximum observé par exemple pour la viscosité et celui obtenu par d'autres mesures physico-chimiques (3–10). D'autre part une certaine augmentation de cet effet avec une diminution de la température a aussi été mise en évidence. L'interprétation des variations de la contraction en fonction des % mol à l'aide de la méthode dite «des variations continues» (11–18) paraît utile pour améliorer l'analyse des associations moléculaires pouvant se former dans des mélanges comme ceux d'alcool-eau. Au moyen des courbes de contraction des mélanges éthanol-eau, la formation d'associations moléculaires, du type A_2W_7 , entre les molécules éthanol (A) et eau (W), a ainsi été mise en évidence.

* Dr Bernard W. Liebich est conseiller scientifique de la Régie fédérale des alcools, Länggassstrasse 31, CH-3000 Berne 9

Dans le contexte de cette étude nous avons donc été amenés à étudier et développer la notion de la «contraction partielle», à notre connaissance nouvelle. La connaissance détaillée de cet effet est en particulier indispensable pour pouvoir calculer avec précision la préparation des solutions alcooliques dans une approche volumique. On pourra ainsi non seulement trouver une teneur en alcool déterminée, mais aussi ce, qui est aussi nouveau, un volume final précis à une température donnée.

Les aspects quantitatifs de la contraction partielle seront examinés dans la présente publication uniquement dans les mélanges éthanol-eau ($C_2H_5OH-H_2O$), pour lesquels nous disposons d'excellentes données. Les calculs et exemples présentés se basant sur les données des différentes tables, publications et programmes officiellement utilisées en Suisse, ainsi que sur les tables alcoométriques internationales (24–30), établies selon les recommandations de l'Organisation Internationale de Métrologie Légale (OIML).

Cette nouvelle manière de procéder devrait surtout s'avérer importante dans le cadre de la pratique et de l'industrie des spiritueux et boissons alcooliques où en ce qui concerne l'éthanol, substance à haute valeur marchande et fiscale, toute imprécision pouvant entraîner des inégalités économiques doit être évitée.

Définitions et généralités sur les contractions totales et partielles

Dans la première partie de ce travail (1) on avait déjà défini de manière générale la notion de «contraction» avec la lettre «C», et introduit, en prévision du présent travail lors de l'addition d'éthanol pur et d'eau, le terme plus spécifique de «contraction totale» avec la lettre «C_t». Dans ce développement nous étudierons plus systématiquement les dilutions d'alcools et de solutions alcooliques, ces dernières ayant déjà subies une contraction initiale lors d'une première dilution. Les termes utilisés ici, pour la «contraction» (C), la «contraction totale» (C_t), et la «contraction partielle» (C_p), ainsi que la notion de normalisation seront donc définis et expliqués ici comme suit:

La contraction

La contraction, pour un volume final apparent de mélange donné ($V_{f\text{mél.}}$)*, est égal à la différence entre les deux grandeurs distinctes a) et b) suivantes:

- a) Le volume d'eau ou de mélange alcool-eau ajouté au mélange initial, qui correspond à la somme des volumes effectivement ajoutés, que nous appellerons ici *volume ajouté d'eau* ($V_{aj\ w}$)* ou *volume ajouté de mélange* ($V_{aj\ mél.}$)*.

* Les abréviations utilisées ici pour désigner des grandeurs, tels les volumes et les masses et les contractions en découlent assez directement. Ainsi par exemple $V_{aj\ mél.}$ et $V_{f\text{mél.}}$ caractérisent les volumes ajoutés et apparents des mélanges et pour distinguer les différentes dilutions on parlera des mélanges 1, 2 et 3.

b) Le volume apparent de l'eau ou du mélange alcool-eau qui correspondent aux volumes effectivement observés après cette addition, et que nous appellerons *volume apparent d'eau* ($V_{ap\ W}$)* ou *volume final apparent du mélange* ($V_{f\ mél.}$)*. N.B.: L'effet de la contraction produira une différence entre les volumes ajoutés et apparents, de même que pour l'eau entre ($V_{aj\ W}$)* et ($V_{ap\ W}$)* pour les mélanges éthanol-eau, où nous observerons une différence souvent bien notable entre le volume ajouté ($V_{aj\ mél.}$)* et le volume final apparent d'un mélange donné ($V_{f\ mél.}$)*.

La contraction totale

On définit comme contraction totale, la contraction qui a lieu lors de l'addition d'une quantité d'eau à une quantité d'alcool pur, donnant un mélange alcool-eau d'une concentration donnée (p. ex. 85 %vol).

La contraction partielle

On définit comme contraction partielle, les étapes de la contraction ayant lieu lors de la dilution avec de l'eau ou d'un mélange alcool-eau, d'un mélange alcool-eau d'une concentration donnée. On distinguera alors les contractions partielles ayant lieu lors des différentes phases des dilutions, et on parlera respectivement des contraction partielles C_{p1} , C_{p2} et de la contraction partielle restante C_{pr} .

La contraction normalisée

On parlera de contractions normalisées lorsque celles-ci sont exprimées par rapport à un volume final apparent de mélange donné ($V_{f\ mél.}$)* de 100 l et on utilise alors pour les contractions les caractères C_t , C_{p1} , C_{p2} et C_{pr} . Lorsque d'un autre côté les contractions se rapportent à un volume final ($V_{f\ mél.}$)* différent de 100 l on les distinguera par une apostrophe C_t' , C_{p1}' , C_{p2}' et C_{pr}' .

Formules générales

Dans la première partie de ce travail (1) on avait établi les développements permettant de calculer la contraction dans les mélanges éthanol-eau, on redonnera ici les principales formules générales.

Voici d'abord la formule développée qui permet de calculer la contraction totale (C_t) à la température de référence de 20°C.

$$C_t' = \frac{V_{f\ mél.} \cdot \rho_{mél.} \cdot (1 - \% \text{ mas}/100)}{\rho_W} - V_{f\ mél.} \cdot (1 - \% \text{ vol}/100) \quad (1.1)$$

Puis en utilisant la formule suivante, importante en alcoométrie et utilisée pour la transformation des % vol en % mas, on obtiendra avec les $\rho_{mél.}$ et ρ_{Alc} pour une température et un % mas donné, des % vol à une température (T) donnée. Ces % vol $_T$ s'écartent ainsi des % vol officiels, rapportés à 20°C.

$$\% \text{ vol } T = \frac{\% \text{ mas} \cdot \rho_{\text{mél. } T}}{\rho_{\text{Alc } T}} \quad (1.2)$$

En remplaçant ensuite la formule 1.2 dans 1.1 on obtiendra pour la contraction la formule générale suivante, exprimée en fonction des % vol T .

$$C_{tT} = \frac{Vf_{\text{mél. } T} \cdot \rho_{\text{mél. } T} \cdot (1 - \% \text{ mas}/100)}{\rho_{WT}} - Vf_{\text{mél. } T} \cdot (1 - \% \text{ mas} \cdot \rho_{\text{mél. } T}/100 \cdot \rho_{\text{Alc } T}) \quad (1.3)$$

N.B.: Les formules générales 1.2 et 1.3 deviennent spécifiques lorsque $T = 20^\circ \text{C}$ et qu'alors les % vol T sont égaux aux % vol des tables alcoométriques. Dans 1.1 et 1.3 non normalisées l'apostrophe a aussi été ajouté ici à C_t et C_{tT} (1).

L'on d'étudiera dans les paragraphes suivants l'effet de la contraction dans un cadre aussi large que possible, en appliquant ce principe à quatre modes de dilutions différents.

La contraction partielle lors de la dilution de mélanges alcool-eau ou d'eaux-de-vie par addition d'eau

Pour examiner en détail comment se calculent et se représentent les contractions partielles et totales, on va s'intéresser ici à la dilution de solutions alcooliques. La dilution de mélanges alcool-eau ou eaux-de-vie avec de l'eau, étant un mode de dilution très couramment utilisé dans la pratique.

Si l'on fixe un volume déterminé pour le mélange initial ($Vf_{\text{mél. } 1}$) on parlera ici de *la méthode 1a*; si par contre on fixe un volume déterminé pour le mélange final ($Vf_{\text{mél. } 2}$) on parlera de *la méthode 1b*.

Méthode 1a: Dilution par addition d'eau en partant d'un volume fixe déterminé de mélange ($Vf_{\text{mél. } 1}$)

Calcul du volume d'eau à ajouter à un mélange alcool-eau fixe déterminé pour obtenir un mélange final d'un volume et d'une teneur en alcool recherchée

Dans la pratique de l'alcoométrie on est souvent appelé à calculer le nombre de litres d'eau à rajouter (V_{ajW}) à un volume fixe déterminé d'un alcool ou une eau-de-vie ($Vf_{\text{mél. } 1}$) d'une teneur en alcool x_1 et de masse volumique ρ_1 pour obtenir un alcool ou une eau-de-vie d'une teneur en alcool finale x_2 (où x_1 et x_2 sont exprimés en % mas).

On utilise pour cela une formule pratique suivante, dans laquelle on fixe pour $Vf_{\text{mél. } 1}$ un volume de 100 l (28):

$$V_{ajW} = \frac{100 \text{ (l)} \cdot \rho_{\text{mél. } 1} \cdot (x_1/x_2 - 1)}{\rho_W} \quad (2.1)$$

Dans la pratique la détermination de ce volume d'eau à ajouter (V_{ajW}) peut aussi se faire avec l'aide de tables établies spécialement pour cela et qui ont été calculés avec la formule 2.1 (28). Comme expliqué dans les paragraphes suivants ces valeurs ont été calculées ici et complétées en tenant compte des valeurs caractéristiques de la contraction (cf. tableau 1).

En procédant selon ces calculs, on peut déterminer la teneur en alcool exacte du mélange que l'on veut obtenir et le volume ajouté ($V_{aj\ mél. 2}$), mais sans pour autant connaître avec précision le volume final ($Vf_{mél. 2}$), car on ne tient ainsi compte, comme cela sera montré dans la figure 1, que de manière incomplète de la contraction. Pour cela on va développer ici les raisonnements sur lesquels se basent ces calculs.

Ainsi en passant par la masse, on peut appliquer les formules suivantes qui dérivent des formules plus générales 4.1 et 4.2:

$$m_W = m_{mél. 2} - m_{mél. 1} \quad (2.2)$$

$$m_W \cdot 0 = m_{mél. 2} \cdot x_2 - m_{mél. 1} \cdot x_1$$

D'où on tire étant donné que la partie gauche de l'équation devient nulle:

$$m_{mél. 1} \cdot x_1 = m_{mél. 2} \cdot x_2 \text{ et puis } m_{mél. 2} = m_{mél. 1} \cdot x_1/x_2 \quad (2.3)$$

Puis en utilisant la formule de la masse volumique ($\rho = \text{masse/volume}$) et en remplaçant la formule 2.3 dans 2.2 on obtient:

$$V_{ajW} \cdot \rho_W = Vf_{mél. 1} \cdot \rho_{mél. 1} \cdot x_1/x_2 - Vf_{mél. 1} \cdot \rho_{mél. 1} \quad (2.4)$$

masse de H₂O masse du mélange final masse du mélange initial

De là l'on tire:

$$V_{ajW} = \frac{Vf_{mél. 1} \cdot \rho_{mél. 1} \cdot x_1/x_2 - Vf_{mél. 1} \cdot \rho_{mél. 1}}{\rho_W} \quad (2.5)$$

La formule 2.5 correspond donc à la formule 2.1 en remplaçant le volume du mélange initial ($Vf_{mél. 1}$) par les 100 l utilisés habituellement dans la pratique.

N.B.: Il est bien sûr important de tenir compte, comme montré dans la partie 1 de ce travail (1), que la contraction est variable en fonction de la température et qu'ainsi si la température du mélange initial s'écarte sensiblement de la *température de référence de 20°C*, les corrections nécessaires des grandeurs: $Vf_{mél. 1}$, $\rho_{mél. 1}$, x_1 , doivent préalablement être effectuées.

Calcul des contractions partielles lors de la dilution selon la méthode 1a

En ajoutant le volume d'eau à compléter (V_{ajW}), au volume du mélange de départ ($Vf_{mél. 1}$), on obtient le volume ajouté du mélange 2 ($V_{aj\ mél. 2}$), qui ne tient pas compte de la contraction ayant lieu à ce stade (cf. tableau 1, fig. 1):

$$V_{aj\ mél. 2} = Vf_{mél. 1} + V_{ajW} \quad (2.6)$$

Tableau 1

Table de dilution selon la méthode 1a, donnant en fonction d'un volume déterminé fixe de 100 l de mélanges alcool-eau de 85 à 40 % vol ($V_{\text{mél.1}}$), les volumes d'eau ajoutés ($V_{\text{aj.w}}$), les volumes d'eau apparents ($V_{\text{ap.w}}$) et les contractions partielles restantes (C_{pr}) exprimées par rapport au volume final apparent ($V_{\text{mél.2}}$) à 60, 50 et 40 % vol

% vol	Teneur de 100 l $V_{\text{mél.1}}$	60 % vol ($V_{\text{mél.2}}$)			50 % vol ($V_{\text{mél.2}}$)			40 % vol ($V_{\text{mél.2}}$)				
		% mas	m. vol (kg/m ³)	$V_{\text{aj.w}}$	$V_{\text{ap.w}}$	C_{pr}	$V_{\text{aj.w}}$	$V_{\text{ap.w}}$	C_{pr}	$V_{\text{aj.w}}$	$V_{\text{ap.w}}$	C_{pr}
85.0	79,40		844,85	44,374	41,667	2,707	73,746	70,000	3,746	117,171	112,500	4,671
82.0	75,82		853,62	38,957	36,667	2,291	67,296	64,000	3,296	109,193	105,000	4,193
80.0	73,48		859,27	35,348	33,333	2,015	62,994	60,000	2,994	103,867	100,000	3,867
77.0	70,06		867,48	29,980	28,333	1,647	56,591	54,000	2,591	95,934	92,500	3,434
75.0	67,82		872,79	26,404	25,000	1,404	52,322	50,000	2,322	90,640	87,500	3,140
72.0	64,53		880,54	21,067	20,000	1,067	45,946	44,000	1,946	82,729	80,000	2,729
70.0	62,39		885,56	17,542	16,667	0,876	41,734	40,000	1,734	77,500	75,000	2,500
67.0	59,22		892,89	12,244	11,667	0,577	35,396	34,000	1,396	69,626	67,500	2,126
65.0	57,15		897,65	8,735	8,333	0,402	31,198	30,000	1,198	64,407	62,500	1,907
62.0	54,09		904,60	3,479	3,333	0,146	24,904	24,000	0,904	56,578	55,000	1,578
60.0	52,09		909,11	0,000	0,000	0,000	20,735	20,000	0,735	51,390	50,000	1,390
57.0	49,13		915,70				14,486	14,000	0,486	43,609	42,500	1,109
55.0	47,18		919,96				10,317	10,000	0,317	38,415	37,500	0,915
52.0	44,31		926,16				4,111	4,000	0,111	30,677	30,000	0,677
50.0	42,43		930,14				0,000	0,000	0,000	25,548	25,000	0,548
47.0	39,64		935,88							17,850	17,500	0,350
45.0	37,80		939,54							12,719	12,500	0,219
42.0	35,09		944,76							5,088	5,000	0,088
40.0	33,30		948,05							0,000	0,000	0,000

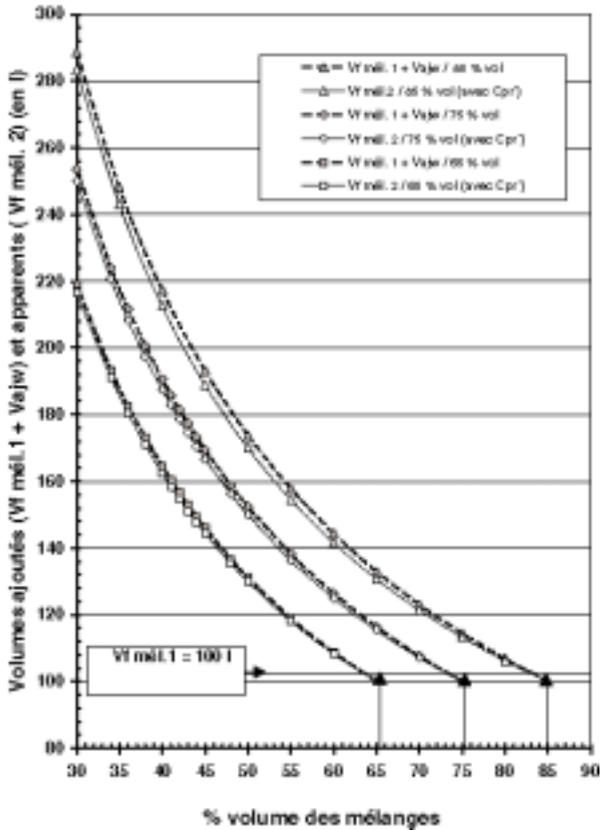


Figure 1 Diagramme de dilution selon la méthode 1a, par addition d'eau à des mélanges de 65, 75 et 85 % vol, permettant de mettre en évidence la contraction partielle restante (C_{pr}'), comme différence des volumes d'eau ajoutés ($V_{aj w}$) à un volume ($Vf_{mél.1}$) de 100 l et des volumes finals apparents ($Vf_{mél.2}$). Ce diagramme montre clairement la différence entre les volumes ($Vf_{mél.2}$), qui tiennent compte de la contraction partielle (C_{pr}') (cf. ligne pleine), et les volumes ($V_{aj w}$) à ajouter au volume ($Vf_{mél.1}$), qui n'en tiennent pas compte (cf. ligne pointillée)

D'un autre côté nous obtenons comme suit, de manière analogue à 2.3 le volume final apparent du mélange:

$$Vf_{mél.2} = Vf_{mél.1} \cdot y_1/y_2 \tag{2.7}$$

Où y_1 et y_2 expriment respectivement en % vol les teneurs en alcool du mélange $Vf_{mél.1}$ et $Vf_{mél.2}$. De là on peut déduire la contraction partielle restante non normalisée (C_{pr}') ayant lieu lors de cette dilution:

$$C_{pr}' = V_{aj\ mél.2} - Vf_{mél.2} \quad (2.8)$$

N.B.: Il est à remarquer qu'il ne s'agit ici que d'une contraction partielle restante (C_{pr}'), car le mélange initial a une teneur en alcool (y_1), qui a déjà été soumis à une contraction partielle primaire (C_{pl}'). D'autre part si ces contractions partielles sont marquées d'une apostrophe cela veut dire que le volume final $Vf_{mél.2}$ n'est pas encore, normalisée à 100 l.

La formule 2.8 peut être développée en remplaçant les équations 2.6 et 2.7 dans 2.8.

$$C_{pr}' = Vf_{mél.1} + V_{aj\ W} - Vf_{mél.1} \cdot y_1/y_2 \quad (2.9)$$

De là on obtient:

$$C_{pr}' = V_{aj\ W} - Vf_{mél.1} \cdot (y_1/y_2 - 1) \quad (2.10)$$

Puis la formule plus générale en remplaçant $V_{aj\ W}$ par la valeur de la formule 2.5.

$$C_{pr}' = \frac{Vf_{mél.1} \cdot \rho_{mél.1} \cdot (x_1/x_2 - 1)}{\rho_W} - Vf_{mél.1} \cdot (y_1/y_2 - 1) \quad (2.11)$$

On pourra calculer la contraction totale (C_t') du mélange comme suit:

$$C_t' = C_{pl}' + C_{pr}' \quad (2.12)$$

La contraction partielle (C_{pl}') se calculant en faisant appel à la formule générale donnée pour cela auparavant (1.1 ou 1.3).

Exemple pratique mettant en évidence l'effet de la contraction lors d'une dilution selon la méthode 1a

En partant d'un mélange alcool-eau à un volume et une teneur en alcool donnée, on veut obtenir n litres d'un alcool à 40% vol, à la température de référence de 20°C.

Comme montré aussi dans l'exemple suivant, comme les différents paramètres varient en fonction de la température, il est important de faire les corrections nécessaires pour les ramener avant à 20°C.

En partant ainsi d'un mélange alcool-eau, pour lequel à la température de 6°C un volume de 1973,2 l et 81% vol ont été mesurés, on devra d'abord, selon les méthodes usuelles en alcoométrie, calculer le % vol et le volume final apparent ($Vf_{mél.1}$) à la température de référence de 20°C (25–30). Ensuite seulement on pourra déterminer les volumes ajoutés ($V_{aj\ W}$) et ($V_{aj\ mél.2}$), puis le volume final apparent ($Vf_{mél.2}$) et enfin la contraction totale et partielle pour le mélange.

Ainsi ce volume de 1973,2 l à 81 % vol mesuré à 6 °C, donnera après correction avec les tables officielles (26, 29, 30) 2000 l à 85 % vol à la température de référence de 20 °C.

En appliquant ensuite la formule 2.1/2.5 avec $V_{f_{mél.1}} = 2000$ l, à 85,0% vol (x_1 : 73,48% mas, $\rho_{mél.1} = 844,85$ kg/m³) qu'on veut diluer à 40% vol (x_2 : 33,3% mas, $\rho_{mél.2} = 948,05$ kg/m³), en ajoutant de l'eau, $\rho_W = 998,20$ kg/m³, on obtient le volume ajouté d'eau suivant:

$$V_{ajW} = 2343,41 \text{ l}$$

De là on tire selon 2.6 le volume ajouté final:

$$V_{aj_{mél.2}} = 2000 \text{ l} + 2343,41 \text{ l} = 4343,41 \text{ l}$$

D'autre part on peut ainsi calculer (2.7) le volume final apparent du mélange 2:

$$V_{f_{mél.2}} = 2000 \text{ l} \cdot \frac{85 \% \text{ vol}/100}{40 \% \text{ vol}/100} = 4250 \text{ l}$$

De là l'on obtient selon 2.8 la contraction partielle suivante pour ces 4250 l

$$C_{pr}' = 4343,41 \text{ l} - 4250 \text{ l} = 93,41 \text{ l}$$

Normalisé à un volume final apparent ($V_{f_{mél.2}}$) de 100 l cela donne:

$$C_{pr} = 2,198 \text{ l}$$

Cependant comme au départ on avait déjà un $V_{f_{mél.1}}$ de 2000 l à 85 % vol et à 20 °C, qui avait déjà été soumis à une contraction totale, en introduisant les paramètres de cet exemple, comme indiqués auparavant, dans la formule 1.1 on obtient pour ce volume de 2000 l la contraction partielle suivante:

$$C_{pl}' = 48,706 \text{ l}$$

N.B.: Il est à remarquer à ce sujet, que lorsqu'on applique la formule générale 1.1 on calcule une contraction totale pour le mélange 1 donné, ce qui correspond à une contraction totale (C_t'). Mais qu'une fois ramenée au volume du mélange 2, ici 4250 l, cette même contraction devient une contraction partielle (C_{pl}').

Ce volume de 48,706 l est donc la contraction à prendre en considération pour 4250 l et qui ramené à 100 l ($V_{f_{mél.1}}$) équivaut à:

$$C_{pl} = 1,146 \text{ l}$$

Dans ce cas nous obtenons donc selon la formule 2.12 la valeur de la contraction totale (C_t):

$$C_t' = 93,41 \text{ l} + 48,706 \text{ l} = 142,21 \text{ l}$$

Ce qui normalisé à un $V_{f_{mél.2}}$ de 100 l équivaut à:

$$C_t = 1,146 \text{ l} + 2,198 \text{ l} = 3,344 \text{ l}$$

Dans l'exemple choisi ici il est aussi à noter que le volume fixe déterminé de 2000 l est un volume final apparent ($V_{f_{mél.1}}$) et non un volume ajouté ($V_{aj_{mél.1}}$), puisque la contraction y est déjà prise en compte dans la méthode de calcul.

On peut d'un autre côté observer que les contractions totale ainsi déterminées correspondent bien aux valeurs indiquées pour 40% vol dans la figure 2 donnant les contractions pour des mélanges éthanol-eau de 100 l en fonction des teneurs en alcool exprimés en % vol.

Dans la figure 1 et le tableau 1 est examiné le cas ou de l'eau est ajoutée pour diluer un volume ($V_{f_{mél.1}}$) fixe déterminé de 100 l à une teneur de 85%vol (75 et 65% vol), pour obtenir selon la méthode 1a (23, 28) le volume ajouté $V_{aj_{mél.2}}$ d'une teneur en alcool recherchée. Le volume $V_{f_{mél.2}}$ également représenté dans la figure 1 et tableau 1, rend bien visible la différence qui existe entre ces deux valeurs et qui est égale à la contraction pour le mélange 2 ($C_{pr'}$). Comme les volumes $V_{f_{mél.2}}$ obtenus dans ce cas sont différents de 100 l, ils doivent donc être ramenés à ce volume avant de pouvoir être comparés aux contractions données dans figure 2. Il est à remarquer qu'une bonne coïncidence entre valeurs calculées et graphiques est ainsi observée.

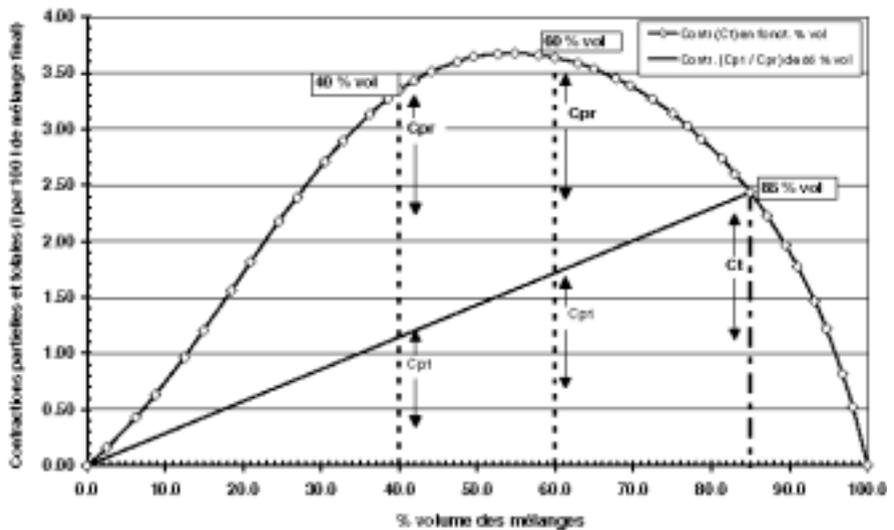


Figure 2 Diagramme représentant les contractions (l/100 l) par rapport au % vol, permettant de mettre en évidence pour les méthodes 1a et 1b les contractions totales (C) des mélanges ($V_{f_{mél.1}}$) de 85% vol et 65% vol, et les contractions partielles (C_{pr}) et ($C_{pr'}$) lors des dilutions pour obtenir un volume final apparent ($V_{f_{mél.2}}$) à 40/60% vol

Méthode 1b: Dilution par addition d'eau pour obtenir un volume fixe déterminé de mélange final ($V_{f_{mél.2}}$)

Calcul du volume d'eau et du volume d'un mélange alcool-eau donné à ajouter l'un à l'autre pour obtenir un mélange final d'un volume déterminé et d'une teneur en alcool recherchée

Nous proposons ici une méthode à notre connaissance très peu utilisée dans la pratique de l'alcoométrie (23), mais qui paraît cependant d'une grande utilité. Il s'agit ainsi de déterminer le volume d'eau à ajouter (V_{ajW}) au volume d'un mélange alcool-eau ou d'une eau-de-vie d'une teneur en alcool x_1 et de masse volumique ρ_1 pour obtenir un volume déterminé, par exemple 100 l, d'un mélange d'alcool ou d'eau-de-vie d'une teneur en alcool finale x_2 (avec x_1 et x_2 exprimés en % mas).

De manière un peu analogue au développement fait pour la méthode 1a (cf. 2.2 à 2.4), on obtient l'égalité suivante:

$$V_{ajW} \cdot \rho_W = V_{f_{mél.2}} \cdot \rho_{mél.2} - V_{f_{mél.2}} \cdot \rho_{mél.2} \cdot x_2/x_1 \quad (3.1)$$

masse de H₂O masse du mélange final masse du mélange initial

D'où l'on tire:

$$V_{ajW} = \frac{V_{f_{mél.2}} \cdot \rho_{mél.2} - V_{f_{mél.2}} \cdot \rho_{mél.2} \cdot x_2/x_1}{\rho_W} \quad (3.2)$$

De 3.2, on parvient à 3.3 en remplaçant le volume de mélange final ($V_{f_{mél.2}}$) par un volume déterminé fixé à 100 l, et on obtient ainsi la formule simplifiée:

$$V_{ajW} = \frac{100 \text{ (l)} \cdot \rho_{mél.2} \cdot (1 - x_2/x_1)}{\rho_W} \quad (3.3)$$

La détermination de ce volume d'eau à ajouter (V_{ajW}) peut se faire aussi avec l'aide de tables qui seront établies spécialement, et dont une partie a été calculée ici avec la formule 3.3 à titre d'exemple (cf. tableau 2). On peut se représenter la manière dont fonctionne la méthode 1b à l'aide de la figure 2.

Calcul des contractions partielles lors de la dilution selon la méthode 1b

D'abord nous obtenons comme suit le volume du mélange initial:

$$V_{f_{mél.1}} = V_{f_{mél.2}} \cdot y_2/y_1 \quad (3.4)$$

En enlevant le volume du mélange initial ($V_{f_{mél.1}}$) au volume du mélange final ($V_{f_{mél.2}}$), on obtient le volume apparent de l'eau (V_{apW}) qui ne tient pas compte de la contraction:

$$V_{apW} = V_{f_{mél.2}} - V_{f_{mél.1}} \quad (3.5)$$

Ce qui donne ensuite:

$$V_{apW} = V_{f_{mél.2}} - V_{f_{mél.2}} \cdot y_2/y_1 \quad (3.6)$$

Tableau 2

Table de dilution selon la méthode 1b, donnant, pour l'obtention de 100 l de mélange alcool-eau final apparent ($V_{f_{mél.2}}$) entre 85 et 10% vol, les volumes d'eau ajoutés ($V_{aj,w}$), les volumes des mélanges alcool-eau ajoutés ($V_{aj_{mél.1}}$) de 85, 75 et 65% vol et les contractions partielles restantes (C_{pr}) exprimées directement par rapport à 100 l ($V_{f_{mél.2}}$)

% vol	Teneurs de $V_{f_{mél.2}}$ (100 l) % mas	m. vol (kg/m ³)	85 % vol ($V_{f_{mél.1}}$)		75 % vol ($V_{f_{mél.1}}$)		65 % vol ($V_{f_{mél.1}}$)							
			$V_{aj,w}$	$V_{ap,w}$ 85 % vol ($V_{f_{mél.1}}$)	C_{pr}	$V_{aj,w}$	$V_{ap,w}$ 75 % vol ($V_{f_{mél.1}}$)	C_{pr}	$V_{aj,w}$	$V_{ap,w}$ 65 % vol ($V_{f_{mél.1}}$)	C_{pr}			
85.0	79.40	844,85	0,000	0,000	100,000	0,000	0,000	0,000	100,000	0,000	0,000	100,000	0,000	
82.0	75.82	853,62	3,856	3,529	96,471	0,326	4,279	4,000	96,000	0,279	4,852	4,615	95,385	0,237
80.0	73.48	859,27	6,418	5,882	94,118	0,536	7,103	6,667	93,333	0,436	8,064	7,692	92,308	0,371
77.0	70.06	867,48	10,223	9,412	90,588	0,811	11,343	10,667	89,333	0,676	12,873	12,308	87,692	0,566
75.0	67.82	872,79	12,752	11,765	88,235	0,987	14,148	13,333	86,667	0,815	16,078	15,385	84,615	0,693
72.0	64.53	880,54	16,520	15,294	84,706	1,226	18,346	17,333	82,667	1,013	20,846	20,000	80,000	0,846
70.0	62.39	885,56	19,006	17,647	82,353	1,359	21,124	20,000	80,000	1,124	24,000	23,077	76,923	0,924
67.0	59.22	892,89	22,734	21,176	78,824	1,558	25,281	24,000	76,000	1,281	28,726	27,692	72,308	1,034
65.0	57.15	897,65	25,200	23,529	76,471	1,670	28,048	26,667	73,333	1,381	31,869	30,769	69,231	1,099
62.0	54.09	904,60	28,888	27,059	72,941	1,829	32,163	30,667	69,333	1,497	36,534	35,385	64,615	1,149
60.0	52.09	909,11	31,326	29,412	70,588	1,914	34,885	33,333	66,667	1,551	39,937	38,462	61,538	1,174
57.0	49.13	915,70	34,973	32,941	67,059	2,031	38,957	37,333	62,667	1,624	42,000	40,000	58,000	1,200
55.0	47.18	919,96	37,399	35,294	64,706	2,105	41,663	40,000	60,000	1,663	44,726	42,308	55,385	1,231
52.0	44,31	926,16	41,004	38,824	61,176	2,181	45,676	44,000	56,000	1,676	48,342	46,667	53,333	1,251
50.0	42,43	930,14	43,387	41,176	58,824	2,211	48,342	46,667	53,333	1,676	51,416	49,000	51,416	1,271
47.0	39,64	935,88	46,949	44,706	55,294	2,243	51,416	49,000	50,000	1,676	54,885	52,308	49,000	1,291
45.0	37,80	939,54	49,314	47,059	52,941	2,255	54,885	52,308	48,342	1,676	58,231	55,385	46,154	1,311
42.0	35,09	944,76	52,818	50,588	49,412	2,230	58,231	55,385	46,667	1,676	61,538	58,462	43,333	1,331
40.0	33,30	948,05	55,143	52,941	47,059	2,202	61,538	58,462	44,000	1,676	64,615	61,538	40,000	1,351
30.0	24,61	962,21	66,517	64,706	35,294	1,811	74,220	73,333	26,667	0,887	84,822	84,615	15,385	0,207
20.0	16,21	973,56	77,620	76,471	23,529	1,149	86,998	86,667	13,333	0,331				
10.0	8,01	984,71	88,697	88,235	11,765	0,461								

Ainsi avec l'aide des équations 3.3 et 3.6 nous obtenons la contraction partielle restante (C_{pr})

$$C_{pr} = V_{ajW} - V_{apW} \quad (3.7)$$

Ce qui donne la formule développée suivante:

$$C_{pr} = \frac{Vf_{mél.2} \cdot \rho_{mél.2} \cdot (1 - x_2/x_1)}{\rho_W} - Vf_{mél.2} \cdot (1 - y_2/y_1) \quad (3.8)$$

Il s'agit ici d'une contraction partielle restante (C_{pr}), le mélange initial ayant déjà été soumis à une contraction partielle primaire (C_{p1}), qui se calcule en faisant appel à la formule générale 1.1. On pourra ainsi calculer la contraction totale (C_t) du mélange selon l'équation 1.1 ou 1.3.

Exemple de calcul pratique selon la méthode 1b montrant l'effet des contractions partielles

En partant d'un mélange à 85 % vol, on veut obtenir après dilution un mélange à 60 % vol et déterminer pour cela les volumes: $Vf_{mél.1}$, V_{ajW} , V_{apW} et les contractions totales et partielles à la température de référence de 20° C.

En appliquant la formule 3.3 et en introduisant pour $Vf_{mél.2} = 100$ l, et 85,0 % vol ($x_1 : 79,40$ % mas) et 60 % vol ($x_2 : 52,09$ % mas et $\rho_{mél.2} = 909,11$ kg/m³) et $\rho_W = 998,20$ kg/m³. On obtient ainsi le volume ajouté d'eau suivant:

$$V_{ajW} = 31,326 \text{ l}$$

De là on tire selon 3.6 le volume apparent d'eau:

$$V_{apW} = 29,412 \text{ l}$$

Et on obtient la contraction partielle suivante:

$$C_{pr} = 31,326 \text{ l} - 29,412 \text{ l} = 1,914 \text{ l}$$

Puis on obtient selon l'équation 1.1 la contraction totale pour 100 l:

$$C_t = 3,634 \text{ l}$$

D'où selon l'équation 1.1 on obtient la contraction primaire pour 100 l:

$$C_{p1} = 1,720 \text{ l}$$

Le tableau 2 et les figures 2 et 3 montrent très bien comment on peut se représenter une dilution selon la méthode 1b, avec un volume donné final fixe de 100 l. On peut noter que la différence entre ($Vf_{mél.1} + V_{ajW}$) et $Vf_{mél.2}$ est égale directement à la contraction partielle (C_{pr}), et que la courbe de cette contraction a un déroulement ayant une certaine ressemblance avec celle de la contraction totale représentée dans la figure 2.

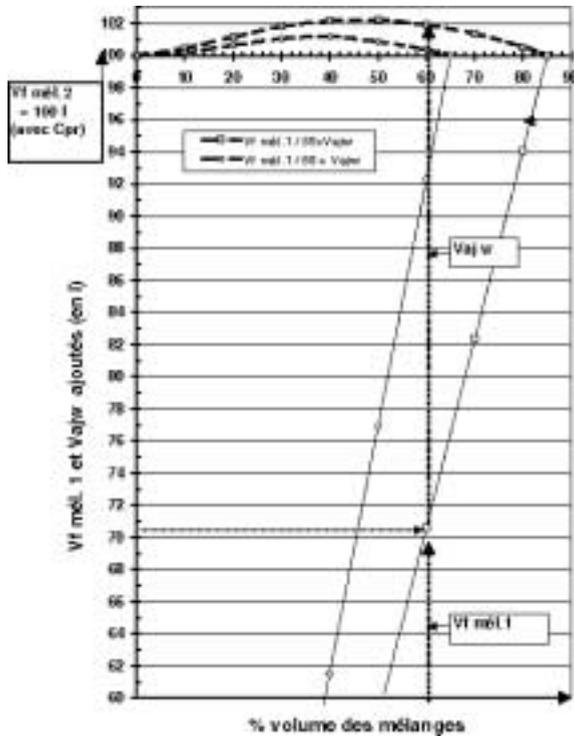


Figure 3 Diagramme de dilution selon la méthode 1b pour l'obtention d'un mélange avec volume final apparent ($V_{f_{mél.2}}$) fixe de 100 l, où l'eau est ajoutée à des mélanges alcool-eau de 65 et 85% vol. La contraction partielle restante (C_{pr}) y est montrée directement, comme différence entre les volumes d'eau (V_{ajw}) ajoutés aux volumes des mélanges ($V_{f_{mél.1}}$) (cf. ligne pointillée), et les volumes finals de ($V_{f_{mél.2}}$) de 100 l (cf. ligne pleine)

La contraction partielle lors de la dilution de mélanges alcool-eau ou d'eaux-de-vie par l'addition d'un autre mélange alcool-eau

La dilution de mélanges alcool-eau ou eaux-de-vie avec un autre mélange alcool-eau de degré inférieur, est aussi une méthode de dilution couramment utilisée dans la pratique. Pour ce type de dilution, de manière analogue à la partie précédente, l'on pourra avoir: soit selon *méthode 2a* un volume déterminé fixe pour le mélange initial ($V_{f_{mél.1}}$); soit selon *méthode 2b* un volume déterminé fixe pour le mélange final ($V_{f_{mél.2}}$).

Méthode 2a: Dilution par addition d'un mélange alcool-eau en partant d'un volume déterminé fixe de mélange initial ($V_{f_{mél. 1}}$)

Calcul du volume d'un mélange alcool-eau donné à rajouter à un volume de mélange alcool-eau déterminé pour obtenir un mélange final d'un volume et d'une teneur en alcool déterminée

Dans la pratique de l'alcoométrie on est parfois appelé à calculer le nombre de litres d'un mélange alcool-eau d'une teneur en alcool x_2 ($V_{f_{mél. 2}}$) à ajouter à un volume donné d'un alcool ou d'une eau-de-vie ($V_{f_{mél. 1}}$) d'une teneur en alcool x_1 pour obtenir un autre mélange d'une teneur en alcool finale x_3 (où x_1 , x_2 et x_3 sont exprimés en % mas). La méthode de calcul est d'abord expliquée sur la base de formules, puis démontré ensuite en pratique à l'aide d'un exemple et d'un graphique (cf. fig. 4) dans un prochain paragraphe.

Pour cela on se base sur les formules générales suivantes aussi utilisées dans l'alcoométrie traditionnelle avec la méthode dite «de la croix» (23).

$$m_{mél. 3} = m_{mél. 1} + m_{mél. 2} \quad (4.1)$$

$$m_{mél. 3} \cdot x_3 = m_{mél. 1} \cdot x_1 + m_{mél. 2} \cdot x_2 \quad (4.2)$$

De la formule 4.1 et de l'égalité (ρ = masse/volume) on obtient:

$$\frac{V_{f_{mél. 3}} \cdot \rho_{mél. 3}}{\text{masse du mélange 3}} = \frac{V_{f_{mél. 1}} \cdot \rho_{mél. 1}}{\text{masse du mélange 1}} + \frac{V_{f_{mél. 2}} \cdot \rho_{mél. 2}}{\text{masse du mélange 2}} \quad (4.3)$$

Avec ce mode de dilution selon la méthode 2a nous faisons ensuite appel aux formules suivantes développées à partir de 4.1 et 4.2 et permettant de calculer le volume $V_{aj\ mél. 2}$ qui doit être ajouté au volume final $V_{f_{mél. 1}}$

$$m_{mél. 2} = m_{mél. 1} \cdot (x_1 - x_3)/(x_3 - x_2) \quad (4.4)$$

$$V_{aj\ mél. 2} \cdot \rho_{mél. 2} = V_{f_{mél. 1}} \cdot \rho_{mél. 1} \cdot (x_1 - x_3)/(x_3 - x_2) \quad (4.5)$$

$$V_{aj\ mél. 2} = \frac{V_{f_{mél. 1}} \cdot \rho_{mél. 1} \cdot (x_1 - x_3)/(x_3 - x_2)}{\rho_{mél. 2}} \quad (4.6)$$

Il est aussi nécessaire de calculer $V_{f_{mél. 3}}$ à partir de $V_{f_{mél. 1}}$. Avec $V_{f_{mél. 3}}$ nous obtenons ainsi le volume du mélange alcool-eau qui tient compte de la contraction.

Pour le calcul du volume de $V_{f_{mél. 3}}$ on peut donc procéder de même:

$$m_{mél. 3} = m_{mél. 1} \cdot (x_1 - x_2)/(x_3 - x_2) \quad (4.7)$$

D'où l'on déduit:

$$V_{f_{mél. 3}} \cdot \rho_{mél. 3} = V_{f_{mél. 1}} \cdot \rho_{mél. 1} \cdot (x_1 - x_2)/(x_3 - x_2) \quad (4.8)$$

$$V_{f_{mél. 3}} = \frac{V_{f_{mél. 1}} \cdot \rho_{mél. 1} \cdot (x_1 - x_2)/(x_3 - x_2)}{\rho_{mél. 3}} \quad (4.9)$$

D'un autre côté on aura aussi:

$$V_{aj\ mél.3} = Vf_{mél.1} + V_{aj\ mél.2} \quad (4.10)$$

Calcul des contractions partielles lors de la dilution selon la méthode 2a

Dans ce type de dilution la contraction totale est la somme de trois contractions partielles successives suivantes:

$$C_t' = C_{p1}' + C_{p2}' + C_{pr}' \quad (4.11)$$

Dans le cadre de la méthode 2a, nous avons d'abord le volume $Vf_{mél.1}$ donné (= volume apparent), fixé par exemple à 100 l. Il est ainsi possible de calculer avec la formule 1.1 la contraction partielle C_{p1}' de ce mélange. Nous obtenons ensuite calculé avec la formule 4.6 le volume $V_{aj\ mél.2}$ (= volume ajouté). Il est ainsi possible en introduisant cette valeur dans la formule 1.1 de calculer la contraction partielle C_{p2}' de ce mélange.

Enfin en ce qui concerne C_{pr} on pourra procéder ainsi:

$$C_{pr}' = V_{aj\ mél.3} - Vf_{mél.3} \quad (4.12)$$

Où:

$$V_{aj\ mél.3} = V_{aj\ mél.2} + Vf_{mél.1} \quad (4.13)$$

Et ainsi:

$$C_{pr}' = V_{aj\ mél.2} + Vf_{mél.1} - Vf_{mél.3} \quad (4.14)$$

Comme déjà remarqué pour la méthode 1a les contractions ainsi obtenues sont exprimées par rapport à des volumes $Vf_{mél.3}$, qui diffèrent des 100 l pris comme référence, et doivent donc être normalisées pour être comparables avec les contractions normalisées (cf. fig. 2 et 4).

Exemple de calcul pratique de dilution selon la méthode 2a en tenant compte des contractions partielles

En partant de 100 l d'un mélange à 85 % vol, on veut obtenir un mélange à 40 % vol par adjonction d'un mélange à 20 % vol et déterminer pour cela les volumes: $V_{aj\ mél.2}$, $Vf_{mél.3}$ et les contractions totale et partielles à 20°C.

On a d'abord les solutions alcooliques avec 85,0 % vol (x_1 : 79,40 % mas, $\rho_{mél.1}$: 844,85 kg/m³) et avec 20 % vol (x_2 : 16,21 % mas, $\rho_{mél.2}$: 973,56 kg/m³) et on veut obtenir une solution à 40 % vol (x_3 : 33,3 % mas, $\rho_{mél.3}$: 948,05 kg/m³).

En appliquant la formule 4.6 et en posant $Vf_{mél.1} = 100$ l (à 85 % vol) on obtient:

$$V_{aj\ mél.2} = 234,086 \text{ l (à 20 \% vol)}$$

Puis de là avec 4.9 on obtient le volume final du mélange 3:

$$V_{f_{mél.3}} = 329,5 \text{ l (à 40\% vol)}$$

Avec la formule 4.14 on trouve ainsi:

$$C_{pr}' = 4,586 \text{ l pour } 329,5 \text{ l (} V_{f_{mél.3}} \text{)}$$

Ce qui normalisé à 100 l de volume final donne:

$$C_{pr} = 1,392 \text{ l pour } 100 \text{ l}$$

Avec ces valeurs pour $V_{f_{mél.1}}$ et $V_{aj_{mél.2}}$ et avec la formule 1.1 on obtient ensuite respectivement les contractions partielles C_{p1}' et C_{p2}' :

Calculé comme C_t pour 100 l ($V_{f_{mél.1}}$) et ramené à 329,5 l ($V_{f_{mél.3}}$):

$$C_{p1}' = 2,435 \text{ l}$$

Et ensuite:

$$C_{p1} = 0,739 \text{ l pour } 100 \text{ l}$$

De manière analogue:

$$C_{p2}' = 4,030 \text{ l pour } 234,086 \text{ l (} V_{aj_{mél.2}} \text{)}$$

D'où:

$$C_{p2} = 1,223 \text{ l pour } 100 \text{ l}$$

De là en additionnant C_{p1}' , C_{p2}' et C_{pr}' selon 4.11 on obtiendra la contraction totale suivante pour cet exemple de mélange à 40 % vol et 20° C:

$$C_t' = 11,051 \text{ l pour } 329,5 \text{ l (} V_{f_{mél.3}} \text{)}$$

Et de là normalisé pour 100 l:

$$C_t = 3,354 \text{ l}$$

Avec le graphique (cf. fig. 4) on peut mieux se représenter la superposition complexe de ces différentes contractions partielles. Si on veut faire des dilutions par l'addition de deux mélanges alcool-eau de 85 % vol et 20 % vol, on peut tracer deux droites.

- La première droite allant de C_t à 85% vol à la valeur de 20% vol située sur l'axe des x, et délimitant dans la partie inférieure les C_{p1} et dans la partie supérieure les C_{p2} .
- La deuxième droite allant de C_t : 85% vol à C_t : 20% vol délimitant dans la partie inférieure les C_{p2} et dans la partie supérieure les C_{p1} . Avec la même méthode on peut aussi examiner une dilution à 40 ou 60% vol et voir comment se déplacent les contractions partielles respectives.

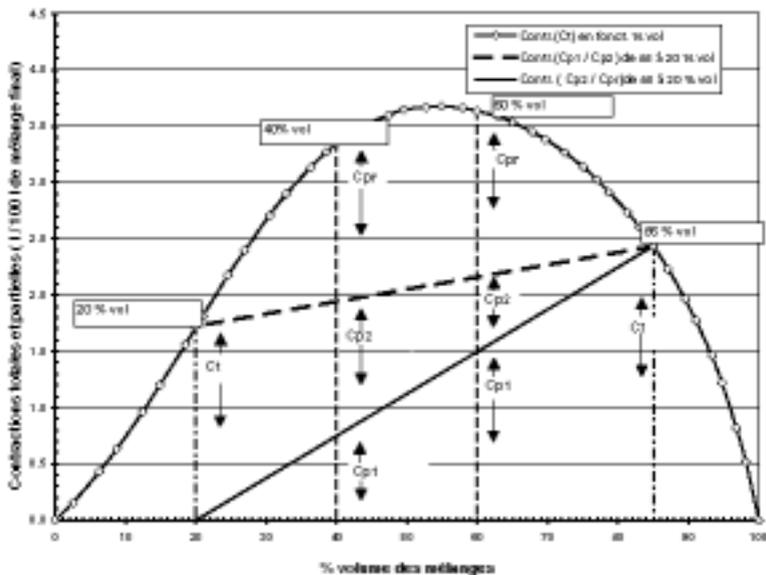


Figure 4 Diagramme donnant les contractions (l/100 l) par rapport au % vol, lors de la dilution selon les méthodes 2a et 2b de mélanges alcool-eau avec un autre mélange alcool-eau d'un % vol inférieure, montrant par des droites la dilution d'un mélange de 85% vol avec un autre de 20% vol, pour obtenir un volume final apparent ($V_{f_{mél.2}}$) par exemple de 40 ou 60% vol et mettant ainsi bien en évidence les contractions partielles (C_{p1} , C_{p2}) et (C_{pr}) lors de ces dilutions

Une grande similitude peut être observée entre la figure 2 et la figure 4, la principale différence étant cependant que dans figure 2 la droite passe par l'origine et délimite la partie supérieure les C_{pr} et dans la partie inférieure C_{p1} .

Méthode 2b: Dilution par addition de deux mélanges alcool-eau pour obtenir un volume déterminé fixe du mélange final ($V_{f_{mél.3}}$)

Calcul des volumes d'un mélange alcool-eau (1) et d'un mélange alcool-eau (2), de degré inférieur, à ajouter l'un à l'autre pour obtenir un mélange final d'un volume et d'une teneur en alcool déterminés

Par analogie à la méthode 1b, on se propose de calculer ici le nombre de litres d'un mélange alcool-eau d'une teneur en alcool (a) ($V_{f_{mél.1}}$) et le nombre de litres d'un alcool ou une eau-de-vie ($V_{f_{mél.2}}$) d'une teneur en alcool (b) à ajouter, pour obtenir un mélange d'une teneur (c) et d'un volume exactement déterminés en

tenant bien compte de la contraction. Ici aussi la méthode de calcul est d'abord expliquée sur la base de formules, puis démontré ensuite en pratique grâce à des exemples.

Pour cela on se base également sur les formules générales 4.1, 4.2 et 4.3 aussi utilisées dans l'alcoométrie traditionnelle avec la méthode dite «de la croix» (23).

Dans le contexte du mode de dilution choisi nous faisons ensuite appel aux formules suivantes développées à partir de 4.1 et 4.2 et permettant de calculer les volumes $V_{aj\ mél.1}$ et $V_{aj\ mél.2}$ qui doivent être ajoutés pour obtenir un volume $V_{f\ mél.3}$ fixé par exemple à 100 l, avec une teneur en alcool déterminée.

$$m_{mél.1} = m_{mél.3} \cdot (x_3 - x_2) / (x_1 - x_2) \quad (5.1)$$

$$V_{aj\ mél.1} \cdot \rho_{mél.1} = V_{f\ mél.3} \cdot \rho_{mél.3} \cdot (x_3 - x_2) / (x_1 - x_2) \quad (5.2)$$

$$V_{aj\ mél.1} = \frac{V_{f\ mél.3} \cdot \rho_{mél.3} \cdot (x_3 - x_2) / (x_1 - x_2)}{\rho_{mél.1}} \quad (5.3)$$

Pour le calcul du volume de $V_{aj\ mél.2}$ on procède de la manière analogue:

$$m_{mél.2} = m_{mél.3} \cdot (x_1 - x_3) / (x_1 - x_2) \quad (5.4)$$

$$V_{aj\ mél.2} \cdot \rho_{mél.2} = V_{f\ mél.3} \cdot \rho_{mél.3} \cdot (x_1 - x_3) / (x_1 - x_2) \quad (5.5)$$

$$V_{aj\ mél.2} = \frac{V_{f\ mél.3} \cdot \rho_{mél.3} \cdot (x_1 - x_3) / (x_1 - x_2)}{\rho_{mél.2}} \quad (5.6)$$

N.B.: Il est aussi à noter que une des difficulté de tels calculs vient du fait que l'on fixe d'abord un volume final apparent, ici $V_{f\ mél.3}$, et que l'on recherche ensuite les volumes ajoutés, ici $V_{aj\ mél.1}$, $V_{aj\ mél.2}$, dont la somme est supérieure à $V_{f\ mél.3}$.

Finalement on aura donc:

$$V_{aj\ mél.3} = V_{aj\ mél.1} + V_{aj\ mél.2} \quad (5.7)$$

Et ainsi:

$$C_{pr} = V_{aj\ mél.3} - V_{f\ mél.3} \quad (5.8)$$

Alors que C_{p1} et C_{p2} peuvent se calculer directement à partir des formules 1.1 et 1.3, l'on obtient C_t en additionnant C_{p1} , C_{p2} et C_{pr} (cf. 4.11).

Exemple de calcul pratique de préparation selon la méthode 2b d'un mélange fixe déterminé

En prenant le même exemple que dans le paragraphe précédent et appliquant les formules 5.3 et 5.6 en posant $V_{f\ mél.3} = 100$ l (à 40 % vol) on obtient les volumes des mélanges 1 et 2 suivants:

$$V_{aj\ mél.1} = 30,349 \text{ l (à 85 \% vol)}$$

Et puis:

$$V_{aj\text{ m}\acute{e}l.2} = 71,043 \text{ l (à 20\% vol)}$$

Avec 5.7 et 5.8 on trouve ainsi directement:

$$C_{pr} = 1,392 \text{ l pour 100 l}$$

Avec ces valeurs pour $V_{aj\text{ m}\acute{e}l.1}$ et $V_{aj\text{ m}\acute{e}l.2}$ et avec la formule 1.1 et 1.3 on obtient ensuite les contractions partielles suivantes:

$$C'_{t(Cp1)} = 0,739 \text{ l pour } V_{aj\text{ m}\acute{e}l.1} = 30,349 \text{ l}$$

D'où reporté à 100 l de volume final, on a ainsi directement la valeur C_{p1} :

$$C_{p1} = 0,739 \text{ l (pour } Vf_{m\acute{e}l.3} = 100 \text{ l)}$$

De manière analogue:

$$C'_{t(Cp2)} = 1,223 \text{ l pour } V_{aj\text{ m}\acute{e}l.2} = 71,043 \text{ l}$$

Et ce qui reporté à 100 l de mélange final donne aussi directement:

$$C_{p2} = 1,223 \text{ l (pour } Vf_{m\acute{e}l.3} = 100 \text{ l)}$$

De là en additionnant C_{p1} , C_{p2} et C_{pr} (cf. 4.11) on obtiendra directement la contraction totale pour cet exemple de mélange à 40% vol et 20°C:

$$C_t = 3,354 \text{ l pour 100 l}$$

Conclusion

Les résultats obtenus par ces quatre modes de dilution, travaillant de manière différente, sont précieux car ils permettent de montrer comment on peut utiliser dans ce domaine spécialisé les concepts nouveaux des contractions totales et partielles. De même une bonne cohérence peut être observée non seulement entre les résultats obtenus entre les méthodes 1a et 1b, ainsi que les méthodes 2a et 2b mais aussi les méthodes 1a et 2a. Comme montré aussi par les figures 2 et 4, les contractions totales et partielles trouvées respectivement pour les méthodes 1a, 1b, 2a et 2b sont en bon accord.

En se basant sur les connaissances assez fragmentaires à disposition dans ce domaine il a été essayé d'effectuer ici une étude systématique de la contraction, et plus précisément de la contraction totale et partielle dans les mélanges éthanol-eau. Les résultats présentés ici ont sans doute ouvert de nouveaux horizons dans un domaine très complexe. Une meilleure connaissance de ces effets et des calculs, qui permettent de les mettre en évidence, aura sûrement une utilité non seulement du point de vue théorique, mais aussi pratique et sur le plan industriel pour une meilleure préparation des dilutions des mélanges éthanol-eau et des eaux-de-vie.

D'autre part il ne semble pas y avoir de raisons que les principes développés ici en ce qui concerne les contractions pour les mélanges éthanol-eau ne soient pas de manière plus générale également applicables à d'autres alcools et solvants.

Remerciements

Mes remerciements vont à Monsieur Jean-François Perrochet de l'OFMET, pour une précieuse collaboration et d'intéressantes discussions sur l'alcoométrie, comme par exemple lors de l'introduction en Suisse de la température de référence de 20° C.

Résumé

La «contraction partielle» est examinée ici, suite à une première étude générale sur la «contraction» dans les mélanges éthanol-eau, qui avait aussi montré l'importance de cet effet du point de vue physico-chimique avec la formation d'associations moléculaires de type A_2W_7 . De manière nouvelle, est développé ici la notion et les méthodes de calcul de la contraction partielle, permettant de mettre en évidence cet effet lors des différentes étapes de dilution des mélanges alcool-eau. Différentes méthodes de dilution de mélanges alcool-eau, soit par l'addition d'eau, soit par l'addition d'un autre mélange alcool-eau, avec un volume initial ou un volume final déterminé, sont aussi examinés de manière systématique. Avec l'aide de plusieurs graphiques et exemples on montre clairement comment se superposent et se calculent les contractions partielles, qui additionnés donnent la contraction totale des mélanges alcool-eau. La connaissance approfondie des contractions partielles sera aussi sûrement à l'avenir d'une grande utilité pour la préparation exacte de mélanges alcool-eau et spiritueux avec des teneurs en alcool et des volumes déterminés avec précision.

Zusammenfassung

Die «partielle Kontraktion» die hier eingehend untersucht wird, folgt einer grundlegenden Studie über die «Kontraktion» in den Ethanol-Wasser Mischungen, in der die physikalisch-chemische Bedeutung dieses Effekts, mit deutlichem Hinweis auf Bildung einer Molekular-Assoziation des Typs A_2W_7 , erwiesen wurde. Auf neuem Wege werden hier der Begriff und die Berechnungsart der partiellen Kontraktion entwickelt, wodurch dieser Effekt in den verschiedenen Stufen der Verdünnung ersichtlich wird. Verschiedene Verdünnungsmethoden der Alkohol-Wasser Mischungen entweder durch Zusatz von Wasser oder von anderen Alkohol-Wasser Mischungen, mit vorgegebenem Anfangs- oder Endvolumen werden systematisch erarbeitet. Mit Hilfe von verschiedenen Beispielen von Rechnungen und Abbildungen wird klar gezeigt wie die partiellen Kontraktionen, übereinander gelagert sind und deren Summe die totale Kontraktion ergibt. Die eingehende Kenntnis der partiellen Kontraktionen wird so voraussichtlich in Zukunft für die industrielle

Aufbereitung von Alkohol-Wasser-Mischungen, mit genau definiertem Alkoholgehalt und Abfüllvolumen besonders nützlich sein.

Summary "Detailed Study of the Contraction in Alcohol-water Mixtures. 2. New Method for the Calculation, Representation and Application of the Partial Contraction in Ethanol-water Mixtures"

The "partial contraction" examined here follows a thorough study on the contraction in ethanol-water mixtures, which amongst other things clearly showed the physicochemical importance of this effect, with formation of molecular associations of the type A_2W_7 . A new approach has been taken in developing here a method for calculation of the partial contraction, whereby this effect is demonstrated during the different steps of dilution of alcohol-water mixtures. Different methods of dilution of such mixtures, either by addition of water or an other alcohol-water mixture, with predetermined initial or final volume, are systematically examined. With the aid of diagrams and examples of calculation it is clearly shown how the different partial contractions are superimposed, their sum resulting in the total contraction in the alcohol-water mixture. A thorough knowledge of the partial contractions can be expected in the future to be of great help in accurate and easier preparation of alcohol-water and spirits mixtures of precisely defined alcohol content and final volume.

Key words

Partial contraction, Contraction, Ethanol-water mixtures, New ethanol-water graphical representation, New alcohol-water mixtures calculation, Accurate alcoholic solutions preparation

Bibliographie

- 1 *Liebich, B.W.*: Etude approfondie de la contraction dans les mélanges alcools-eau. Partie 1: Calculs, représentations et nouveaux résultats sur la signification de la contraction dans les mélanges éthanol-eau. *Mitt. Lebensm. Hyg.* **90**, 714–733 (1999).
- 2 *Liebich, B.W.*: Suite du présent travail, Partie 3 en publication.
- 3 *Bruun, G.S., Graae Soerensen, P. and Hvidt, Aa.*: Ultrasonic properties of ethanol-water mixtures. *Acta Chem. Scand.* **A28**, 1047–1054 (1974).
- 4 *v. Goldammer, E. and Hertz, H.G.*: Molecular motion and structure of aqueous mixtures with non-electrolytes as studied by nuclear magnetic relaxation methods. *J. Phys. Chem.* **74**, 3734–3755 (1970).
- 5 *v. Goldammer, E. and Zeidler, M.D.*: Molecular motion in aqueous mixtures with organic liquids by NMR relaxation measurements. *Ber. Bunsenges. Physik. Chem.* **73**, 4–15 (1969).
- 6 *Beddard, G.S., Doust, T. and Hudales, J.*: Structural features in ethanol-water mixtures revealed by picosecond fluorescence anisotropy. *Nature* **294**, 145–146 (1981).
- 7 *Beddard, G.S., Doust, T. and Porter, G.*: Fluorescence depolarization measured by frequency conversion. *Chem. Phys.* **61**, 17–23 (1981).
- 8 *Fleming, G.R., Morris, J.M. and Robinson, G.W.*: Direct observation of rotational diffusion by picosecond spectroscopy. *Chem. Phys.* **17**, 91–100 (1976).

- 9 Viscosity, aqueous solutions, non-electrolytes: International Critical Tables, III 1 ed., published by the National Research Council/by Mc Graw-Hill Inc, New-York, 22–25 (1928).
- 10 Schindler, W.: Rotation of ethanol in ethanol-water mixtures studied by light scattering. *Chem. Phys.* **31**, 345–355 (1978).
- 11 Denison, R.B.: Contributions to the knowledge of liquid mixtures I and II. *Trans. Faraday Soc.* **8**, 20 (1912) and **8**, 35 (1912).
- 12 Job, P.: *Ann. Chim. (Ser. 10)* **9**, 113 (1928).
- 13 Hill, Z.D. and Mac Carthy, P.: Novel approach to Job's method (an under-graduate experiment). *J. Chem. Educ.* **63**, 162–167 (1986).
- 14 Ostromisslensky, I.: Über eine neue, auf dem Massenwirkungsgesetz fussende Analysenmethode einiger binären Verbindungen. *Berichte* **44**, 268 (1911).
- 15 Marcantonatos, M. et Liebich, B.W.: Système luminescent HMCB-H₃BO₃-hydroxy-2-méthoxy-4-chloro-4'-benzophenone en milieu sulfurique concentré. *Chimia*. **24**, (12) (1971).
- 16 Liebich, B.W.: Etude du système luminescent HMCB-H₃BO₃-hydroxy-2-méthoxy-4-chloro-4'-benzophenone en milieu sulfurique conc. et ses applications au dosage de traces de bore dans les eaux, sols et plantes. Thèse Nr. 1556 Université de Genève, 1971.
- 17 Steiner, T., Mason, S.A. and Saenger, W.: Cooperative O - H..O hydrogen bonds in β -cyclodextrine-ethanol octahydrate at 15° K: A neutron diffraction study. *J. Am.Chem.Soc.*, **112**, 6184–6190 (1990).
- 18 Speedy, R.J.: Self-replicating structures in water. *J. Phys. Chem.* **88**, 3364–3373 (1984).
- 19 Plato, F.: *Tafel zur Umrechnung der Volumenprozente in Gewichtsprozente und der Gewichtsprozente in Volumenprozente bei Branntweinen.* Verlag Julius Springer, Berlin 1901.
- 20 Osborne, N.S., McKelvy, E.C. and Bearce, H.W.: Density and thermal expansion of ethyl alcohol and its mixtures with water. *Bull. Bureau Standards* **9**, 327–474 (1913).
- 21 Feydt, G.: *Tabellen zur Kontraktionsberechnung (erstellt nach Angaben von F. Plato).* Institut für Gärungsgewerbe, Berlin (ca. 1930).
- 22 Angelidis, O.M.: Calcul du mélange de l'alcool éthylique avec de l'eau. *Chimie Analytique* **50**, 118–121 (1968).
- 23 Potterat, M.: Régie féd. des alcools, publication interne: Dilution et remontage, Berne (1973).
- 24 Organisation internationale de métrologie légale (OIML), Tables alcoométriques internationales, Bureau international de métrologie légale, Paris 1975.
- 25 Office fédéral de métrologie: Tables alcoométriques (établies selon les recommandations de l'OIML), EDMZ, Berne 1977.
- 26 Régie féd. des alcools, publication interne: Table pour le calcul du volume occupé à 20° C, Berne (1983).
- 27 Régie féd. des alcools et Office fédéral de métrologie: Tables alcoométriques pratiques (1984).
- 28 Régie féd. des alcools, publication interne: Dilution des eaux-de-vie, Berne (1985).
- 29 Bundesmonopolverwaltung für Branntwein: Alkoholrechenprogramm (EDV), Offenbach/Main (1996).
- 30 Tables alcoométriques du PTB/Allemagne (calculées selon les recommandations de l'OIML), adaptées pour la Suisse, Berne (1997).

Dr Bernard W. Liebich, Rütliweg 83, CH-3072 Ostermundigen

Evaluation of a Real-Time PCR to Detect Coeliac-Toxic Components and Comparison to the ELISA Method Analysing 35 Baby Food Samples

Isabelle Dahinden, Markus Stadler and Jürg Lüthy, University of Berne, Department of Chemistry and Biochemistry, Laboratory of Food Chemistry, Berne

Urs Pauli, Swiss Federal Office of Public Health, Berne

Received 10 July 2000, accepted 26 October 2000

Introduction

Coeliac disease is a genetic, immunologically mediated small bowel enteropathy that can cause different gastrointestinal, metabolic, musculoskeletal and neuropsychiatric symptoms (1). The patients concerned cannot include wheat, barley or rye in their strict gluten-free diet. Mainly newborns should not be exposed too early in life to these coeliac-toxic components (2, 3). Breast feeding practice has the positive effect by delaying the time point of the gluten introduction and thus results in a prolonged latency time between gluten introduction and onset of the disease (4). Studies made among breastfed and non-breastfed infants showed that human milk protects against infections via the secreted IgA antibodies (5). Such an enhanced immunological function could also explain why breastfeeding may protect against diseases like coeliac disease and allergy (6). Therefore it is very important that baby-food products are gluten-free and no coeliac-toxic component is consumed by babies within the first 4–6 months.

A quantitative-competitive PCR-system (QC-PCR) to detect contamination of wheat, barley or rye in gluten-free food (7) was developed. Since the QC-PCR can be substituted with the LightCycler™ technology (e.g. in serology and microbiology (8, 9)) the present study evaluates the potential for real-time PCR for wheat, barley and rye. An advantage of the real-time assay is the overall reduced time of the whole process to 20–30 minutes by the use of air instead of thermal blocks and a high surface-to-volume capillary tube format. Second, the results can be followed in

real-time as the reaction proceeds. Third, the closed capillary system eliminates the risk of contamination. Forth, the handling is less laborious and it does not require any post-PCR manipulations.

In this study, 35 most frequently consumed baby food products for newborns and infants, all labelled as gluten-free and hypoallergenic were analysed.

The Codex Alimentarius (10) defines a gluten-free food to contain less than 100 ppm gliadin analysed by ELISA (enzyme linked immuno sorbent assay). Thus the allowed limit for gluten-free food is 10 mg gliadin/100 g dry weight. Since wheat contains 5% gliadin, the limit of 10 mg gliadin corresponds to 200 mg of wheat. This means that not more than 200 mg of wheat is allowed per 100 g of a product i.e. to 0.2% of the product. With the presented real-time PCR it was checked if there exists babyfood products which have more than 0.2% wheat DNA in their background DNA (above the allowed limit).

Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) use mono- or polyclonal antibodies against gliadins. The only assays which have been applied in interlaboratory tests and are commercially available are based on a monoclonal antibody against a part of the ω -gliadin fraction (11–13). The disadvantage of the ELISA is that various cultivars have differences in the proportions of ω -gliadins, resulting in systematic errors. Though protein contents and the proportions of ω -gliadins are similar, the affinity of the antibodies to different gliadin standards can strongly vary. By comparing several ELISA-test kits, it has been shown that the measured gliadin contents varied greatly. Therefore, none of the present methods allows the determination of the true gliadin content in gluten-free foods. There is still a requirement for a sensitive and fast assay to screen different foods on the market.

In a first step the DNA quality was controlled on an agarose gel after extraction of the nucleic acids from different processed baby foods. Then the amplificability of DNA was checked by a plant-specific PCR (14) and real-time PCR was applied to the baby food samples in order to determine the content of wheat DNA. In parallel, gluten from wheat, barley or rye was analysed with the ELISA method. Finally, results of both methods were compared to each other. Real-time PCR and ELISA yielded identical results for all commercial products indicating a comparable sensitivity of both methods. Out of the 35 baby-foods, 34 were below the allowed limit of 0.2% wheat DNA or 100 ppm gliadin (10 mg gliadin/100 g dry weight) and could be considered as safe for babies.

Materials and methods

DNA extraction

300 mg of homogenized sample were incubated with 860 μ l of TNE buffer (10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 150 mM NaCl, 2 mM EDTA and 1% (w/v) SDS), 100 μ l of 5 M guanidine hydrochloride and 40 μ l of 20 mg/ml proteinase K (Merck, Darmstadt, Deutschland) on a thermomixer (Eppendorf, Hamburg, Germany) at 58°C

for at least 3 hours. Co-extracted RNA was removed by 5 μ l of RNase A (10 mg/ml) (Promega, Madison, WI, USA) at 58°C for 5 min. The solution was then purified using the Wizard protocol (Promega). Finally, the DNA was eluted in 100 μ l of 10 mM Tris-HCl, pH 9.0 DNA, concentrations were determined spectrophotometrically using a GeneQuant II RNA/DNA Calculator (Pharmacia, Uppsala, Sweden).

PCR

PCR was carried out in a 50 μ l reaction volume for plant-specific PCR (14) containing 200 ng of template DNA, 2.5 mM of MgCl₂, 0.5 μ M of each oligonucleotide primer TAB03 and TAB04 (Microsynth, Balgach, Switzerland) (table 1), 200 μ M of each dNTP (Promega), 1 \times reaction buffer (Promega), 2 μ g/ml of bovine serum albumin and 1 unit of *Taq* DNA polymerase (Promega). PCR was performed on a Progene thermocycler (Techne, Princeton, NY, USA) as follows: initial denaturation at 94°C for 3 min, 35 cycles at 96°C for 20 sec, 54°C for 40 sec, and 72°C for 40 sec, and extension at 72°C for 3 min. PCR products were analyzed on 1.5% (w/v) agarose gels.

Real-time PCR with SYBR Green I

Reactions on the LightCycler™ with DNA Master SYBR Green I (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) were performed in 20 μ l volumes containing 50 ng of template DNA, 3 mM of MgCl₂, 0.5 μ M of each oligonucleotide primer WBR11 and WBR13 (table 1) and 0.5 μ M LightCycler DNA Master SYBR Green I (Roche). The temperature profile was as follows: initial denaturation at 95°C for 30 sec, followed by 60 cycles of denaturation at 95°C for 0 sec (immediate cooling), annealing at 55°C for 5 sec, and final extension at 72°C for 10 sec. Melting curve analysis (to control correct amplification) and cooling were done according the instructions of the manufacturer.

Real-time PCR with hybridisation probes

The standard temperature profile for these assays included in the 20 μ l reaction volume 100 ng of template DNA, 4 mM of MgCl₂, 0.5 μ M of each oligonucleotide primer WBR11 and WBR13, 0.4 μ M of each Hybridisation probe (TIB MOLBIOL, Berlin, Germany) WBR-LC1 and WBR-LC2 (table 1) and 2 μ l mastermix (LightCycler-DNA Master Hybridization Probes, Roche). The temperature profile was as follows: initial denaturation at 95°C for 30 sec, followed by 60 cycles of denaturation at 95°C for 0 sec, annealing with fluorescence monitoring at 58°C for 10 sec, and extension at 72°C for 10 sec.

Calibration of standard curves

50 ng of DNA containing 50, 20, 10, 5, 2, 0.2 and 0.02% wheat DNA with a background of soy DNA were amplified. Reproducibility was checked through

Table 1
Primers used in this work

Name	Orientation	Sequence (5'-3')	Reference
TAB03	sense	CGAAATCGGTAGACGGCTACG	(11)
TAB04	antisense	GGGATAGAGGGACTTGAAC	(11)
WBR11	sense	GGTAACTTCCAAATTCAGAGAAAC	(7)
WBR13	antisense	TCTCTAATTTAGAATTAGAAGGAA	(7)
WBR-LC1	sense	AGACTCAATGGAAAGCTGTTCTAACGA	(this work)
WBR-LC2	sense	Red640- CGAGTTAATTACGTTGTGTTTAGTGG	(this work)

WBR = wheat-barley-rye detection system

TAB = plant system

intra- and interassays. In the intra-assay the samples of the standard curve were analysed in parallel four times in the same experiment and the variation was then calculated for every value. The intra-assay was repeated five times. In the interassay the samples of the standard curve were analysed on subsequent days and the variation was evaluated for every value. Conditions for real-time PCR were as described above.

After PCR cycling, the LightCycler™ software converts the raw data to the amount of DNA. The first step is performed by setting a threshold value on a fluorescence level, at which the fluorescence development reflects that the PCR is in the log-linear phase. The software then calculates the logarithmic values for all of the data points that are above this noise band. By interpolating a straight line through an user-defined number of data points above this threshold value, the software then determines the points of intersection with the noise band for all of the standards. These points of intersection, which are referred to as crossing points (cycle numbers) in the software, are plotted against the logarithm of the concentration. The concentrations of target sequence in the standards and in the samples with unknown concentrations are obtained by comparing the crossing points for the samples with the crossing points of the standards.

Initial experiments with standard curves and reference samples were analyzed both with SYBR Green and HybProbes and found to be identical (data not shown). Therefore, the cheaper SYBR Green was used for further experiments.

Determination of baby food samples

All products were extracted and analysed in duplicates. The content of wheat DNA was evaluated by real-time PCR to be above or below 0.02% and 0.2%.

Gliadin-ELISA

Gliadin extraction and analysis were performed as recommended in the distributor's manual of the Ridascreen Gluten kit (R-Biopharm, Darmstadt, Germany) (13).

Results and Discussion

Celiac disease commonly appears during the first two years of life, after several months of wheat protein ingestion (15). The treatment of celiac patients consists of a strict gluten-free diet.

The aim of this study was to apply the existing WBR (wheat, barley and rye)-quantitative-competitive (QC)-PCR system (7) to a real-time PCR format and to screen different baby food products. Since the ELISA assay is still the only established in the Codex Alimentarius (10) for testing gluten-free products, the presented data should indicate if the real-time PCR might be an additional method to be used.

The QC-PCR system was adapted to the LightCycler™ with respect to MgCl₂ concentration and program profile. The specificity of the WBR-system has been

tested in the previous work (7). The hybridization probes WBR-LC1 and WBR-LC2 and primers WBR11 and WBR13 were defined on the intron of the chloroplast *trnL* gene (14). The oligonucleotides used for PCR amplify a 201 bp fragment for wheat and rye and for barley a 196 bp long fragment. The LightCycler™ Red640 labelled probe (WBR-LC2) is located 3 bp downstream of the fluorescein labelled probe (WBR-LC1) and 6 bp upstream of the lower primer WBR13. The samples for the standard curves from wheat in soy DNA ranged from 50, 20, 10, 5, 2, 0.2 to 0.02%. All PCR reactions of the standards were performed in quadruplicate; the intra-assay variation was <10%, and interassay variation was <15% (data not shown).

The different baby food samples are subdivided into infant formula samples (from the first day of life; samples #1–11) and such for nurslings (from the 4th month; samples #12–35; see table 2). Baby food products are strictly regulated in most countries. Infant formula samples are based on whey, vegetable fat and oil, skim milk powder, maltodextrin, lactose, milkproteins, minerals, vitamins, starch and emulsifiers. Starch was derived from rice-, maize- or potato but not from wheat. The products were all labelled as gluten-free and hypoallergenic.

All of the chosen infant formula samples #1–11 (table 2) resulted in DNA-amounts from 3000 to 9000 µg/100 g. Samples #1–8 showed a signal in plant-specific PCR, which means that plant DNA was present and amplifiable. In the mentioned products lecithin or starch of potato or rice was added. With respect to WBR-real-time PCR, wheat DNA content of this samples was below 0.02%. Samples #9–11 produced no amplicon in plant-specific PCR. Reasons for this were that samples #9–11 contain no vegetable ingredients. However, this does not completely exclude the presence of possible contaminations with coeliac-toxic components in these products.

For samples #1–11, gliadin-content in the ELISA was below 10 ppm, which indicates that all tested products for newborns could be considered as safe. Samples #12–35 should give an intake with nutrients for an optimal growth in the first year of life of the babies. They included paps made of vegetables, fruit or milk. All of the chosen products resulted in DNA-amounts from 2000 to 14000 µg/100 g. Samples #12–31 resulted all in a signal in plant-specific PCR. WBR-real-time PCR yielded for all samples (except for sample #25) wheat DNA percentages of less than 0.02%. Sample #25 had a wheat DNA content of 0.2–0.02% but still in the allowed limit of the Codex Alimentarius. Concerning the ELISA results, evaluation of these samples with real-time PCR revealed that no product was above the limit value of 100 ppm or 0.2% wheat DNA, respectively. In the ELISA, samples #25 to #29 showed that the gliadin contents were between 10–100 ppm, which indicates that these samples are gluten-free, too. Samples #31 was both positive in real-time PCR as well as in the ELISA. Sample #31 was extracted twice in duplicates in order to exclude contamination. Samples #32–35 were also prepared twice in duplicates. Plant-PCR never resulted in a signal even though vegetable ingredients were present. Reasons for this

Table 2

DNA-amount, qualitative plant-PCR, quantitative real-time PCR and ELISA results of 35 baby food samples (+, detected PCR product, -, no PCR product, •, no real-time signal). 0.2% wheat DNA corresponding to 100 ppm. 1 ppm means 0.1 mg gliadin/100 g food

<i>Infant formula samples</i>	<i>dsDNA µg/100 g</i>	<i>Plant-PCR</i>	<i>WBR REAL- TIME PCR</i>	<i>ELISA</i>
#01	4750	+	<0.02%	< 10 ppm
#02	5916	+	<0.02%	< 10 ppm
#03	3866	+	<0.02%	< 10 ppm
#04	3066	+	<0.02%	< 10 ppm
#05	7565	+	<0.02%	< 10 ppm
#06	5266	+	<0.02%	< 10 ppm
#07	7915	+	<0.02%	< 10 ppm
#08	4999	+	<0.02%	< 10 ppm
#09	3099	-	•	< 10 ppm
#10	4232	-	•	< 10 ppm
#11	8815	-	•	< 10 ppm
<i>Baby food samples for nurslings (4th month)</i>	<i>dsDNA µg/100 g</i>	<i>Plant-PCR</i>	<i>WBR REAL- TIME PCR</i>	<i>ELISA</i>
#12	6782	+	<0.02%	< 10 ppm
#13	2066	+	<0.02%	< 10 ppm
#14	2383	+	<0.02%	< 10 ppm
#15	4666	+	<0.02%	< 10 ppm
#16	5149	+	<0.02%	< 10 ppm
#17	2183	+	<0.02%	< 10 ppm
#18	14631	+	<0.02%	< 10 ppm
#19	3499	+	<0.02%	< 10 ppm
#20	3716	+	<0.02%	< 10 ppm
#21	7765	+	<0.02%	< 10 ppm
#22	3816	+	<0.02%	< 10 ppm
#23	4949	+	<0.02%	< 10 ppm
#24	2766	+	<0.02%	< 10 ppm
#25	7799	+	0.02–0.2%	10–100 ppm
#26	7049	+	<0.02%	10–100 ppm
#27	4199	+	<0.02%	10–100 ppm
#28	2033	+	<0.02%	10–100 ppm
#29	5899	+	<0.02%	10–100 ppm
#30	5399	+	<0.02%	< 10 ppm
#31	2999	+	>0.2%	>100 ppm
#32	8949	-	•	< 10 ppm
#33	2916	-	•	< 10 ppm
#34	6582	-	•	< 10 ppm
#35	2549	-	•	< 10 ppm

were probably processing steps during manufacturing of the products which degraded nucleic acids or substances which inhibited the PCR-reaction. In this case ELISA should be used to check for coeliac-toxic compounds.

It can be concluded that real-time PCR for the detection of gluten-free products for coeliac patients presents an additional method to the established ELISA method. There exists the possibility to differentiate in the presence of the coeliac-toxic components between DNA- or protein content by the use of PCR or/and ELISA. In the case of wheat free products containing gliadin which would be an indicator that purified gliadin is used as an ingredient the ELISA method is a good detection method. And in the presence of samples with gluten-free wheat starch the PCR method yields informations about the DNA amount of added wheat, barley or rye. So the origin of contamination can be better identified.

The results in this study (real-time PCR and ELISA) showed to be identical with respect to the limit value. Samples #26–29 resulted in the ELISA in 10–100 ppm which would indicate a wheat DNA content of 0.02–0.2% in real-time PCR. However, WBR-real-time PCR yielded for these samples wheat DNA percentages of less than 0.02%. This can be explained by the fact that the values in the ELISA were just above 10 ppm (data not shown). For three products (samples #32–35) it was not possible to amplify plant DNA. Processing procedures during manufacturing and inhibitors in food could influence PCR reaction. It should be mentioned that contamination resulting from wheat-containing products, which are manufactured in the way to contain no amplifiable DNA, could not be detected with this method. This problem exists already since the methodology of PCR is available. But this problem is also seen in the ELISA since antibodies could not recognize food proteins which are degraded or have an altered structure of the binding site.

The WBR-PCR-system described in this study is based on the amplification of the intron of the chloroplast *trnL* gene. Different vegetables and tissues like leafs, tubers, grains etc. have different amounts of chloroplasts resulting in varying amounts of DNA which may influence quantitation of real-time PCR. Therefore, results obtained from products with a huge part of different vegetable ingredients and tissues should be carefully interpreted.

However, in the determination of gluten-free products mainly cereals such as maize, millet, rice and soy (flour or processed products like bread, pasta, pastry and flakes) have to be analysed. It is not known enough about the variation of chloroplast copies between wheat cultivars. If there exist differences, theoretically, it should be made a standard for quantitation for each cultivar. But since it is known which wheat species is manufactured in the food samples, this would not be useful.

Thus, real-time PCR could be regarded as a safe and quick method in the evaluation of gluten-free products. Out of the 35 chosen products 35 samples showed equal results with both methods, indicating that the presented real-time PCR is a valid addition to the ELISA for the detection of gluten in food samples.

Acknowledgment

We thank Marius Grand for the translation of the summary into French.

Zusammenfassung

Zöliakie-Betroffene müssen ihr Leben lang eine strikt glutenfreie Diät einnehmen, um die vielfältigen Symptome vermeiden zu können. Damit dies eingehalten werden kann, müssen die speziell mit dem glutenfrei gekennzeichneten Lebensmittel überprüft werden. Die bis heute einzig im Codex Alimentarius etablierte Untersuchungsmethode stellt der ELISA dar. In dieser Studie wird ein bereits entwickeltes quantitativ kompetitives PCR-System, welches weizen-, gerste- und roggen-spezifisch ist, auf die neue real-time PCR-Technologie adaptiert. Anhand von real-time-PCR und ELISA wurden 35 Babynahrungen untersucht. Die erhaltenen Resultate stimmen gut miteinander überein, was zeigt, dass die real-time-PCR eine ergänzende Methode zum ELISA darstellt.

Résumé

Les personnes qui souffrent de la maladie de coeliakie doivent observer durant leur vie un régime sans gluten. A cette fin, les aliments spéciaux déclaré «sans gluten» doivent être contrôlés. A ce jour, l'unique méthode recommandée par le Codex Alimentarius est l'analyse ELISA. Une méthode existante basée sur l'analyse PCR quantitative compétitive spécifique au blé, à l'orge et au seigle a été adoptée pour développer la nouvelle méthode real-time PCR. 35 produits pour bébé ont été examinés à l'aide des méthodes real-time PCR et ELISA. Les résultats obtenus ont été concordants, la méthode real-time PCR peut donc être utilisée en complément de l'analyse ELISA.

Summary

Celiac patients have to adhere to a lifelong strict diet to prevent the various symptoms. In order to realize this diet, food labelled as gluten-free have to be analyzed. The ELISA assay is still the only established test stipulated by the Codex Alimentarius. In this study an existing wheat-, barley- and rye-specific quantitative competitive PCR-system (QC-PCR) is adapted to the new real-time PCR technology. 35 baby food products were analysed by real-time PCR and ELISA. The results correlated well to each other indicating that real-time PCR can be applied as additional method to ELISA.

Key words

Quantitative PCR, Real-time PCR, ELISA, Gluten-free baby food

References

- 1 Howdle, P.D.: Why lifelong diet matters in coeliac disease. *The Practitioner* **238**, 687-691 (1994).
- 2 Chirido, F.G., Rumbo, M., Anon, M.C. and Fossati, C.A.: Presence of high levels of non-degraded gliadin in breast milk from healthy mothers. *Scand J Gastroenterol* **33**, 1186-1192 (1998).

- 3 *Hanson, L.A.*: Human milk and host defence: immediate and long-term effects. *Acta Paediatr. Suppl.* **88**, 42–46 (1999).
- 4 *Bouguerra, F., Hajjem, S., Guilloud-Bataille, M., Khalat, M., Khaldi, F. and Bennaceur, B.*: Breast feeding effect relative to age of onset of celiac disease. *Arch. Pediatr.* **5**, 621–626 (1998).
- 5 *Falth-Magnusson, K.*: Breast milk antibodies to foods in relation to maternal diet, maternal atopy and the development of atopic disease in the baby. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* **90**, 297–300 (1989).
- 6 *Hanson, L.A.*: Breastfeeding provides passive and likely long-lasting active immunity. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* **82**, 523–533 (1999).
- 7 *Dahinden, I., von Büren, M. and Lüthy, J.*: A quantitative competitive PCR system to detect contamination of wheat, barley and rye in gluten-free food for coeliac patients. Accepted in: *Euro. J. Food Res. and Technol.*
- 8 *Loeffler, J., Henke, N., Hebart, H., Schmidt, D., Hagemeyer, L., Schumacher, U. and Einsele, H.*: Quantification of fungal DNA by using fluorescence resonance energy transfer and the light cycler system. *J. Clin. Microbiol.* **38**, 586–590 (2000).
- 9 *Miley, W.J., Suryanarayana, K., Manns, A., Kubota, R., Jacobson, S., Lifson, J.D. and Waters, D.*: Real-time polymerase chain reaction assay for cell-associated HTLV type I DNA viral load. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* **16**, 665–675 (2000).
- 10 Codex Alimentarius Commission: Proposed Draft Revised Standard for gluten-free foods (1996).
- 11 *Van Eckert, R., Andrea, S. and Pfannhauser, W.*: Proceedings of the 13th Meeting Working Group of Prolamin Analysis and Toxicity **11** (1998).
- 12 *Windemann, H., Fritschy, F. and Baumgartner, E.*: Enzyme-linked immunosorbent assay for wheat α -gliadin and whole gliadin. *Biochim. Biophys. Acta* **709**, 110–121 (1982).
- 13 *Skerritt, J.H. and Hill, A.S.*: Self-management of dietary compliance in coeliac disease by means of ELISA “home test” to detect gluten. *Lancet* **337**, 379–382 (1991).
- 14 *Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G. and Bouvet, J.*: Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant. Mol. Biol.* **17**, 1105–1109 (1991).
- 15 *Marsh, M.N.*: Gluten, major histocompatibility complex and the small intestine. *Gastroenterology* **102**, 330–354 (1992).

Corresponding author: Isabelle Dahinden, Universität Bern, Labor für Lebensmittelchemie, Freiestrasse 3, CH-3012 Bern

Allergene Konservierungsmittel (Isothiazolinone) in der Luft von frisch gestrichenen Räumlichkeiten

Markus Niederer, Kantonales Laboratorium Basel-Stadt, Basel

Eingegangen 31. August 2000, angenommen 13. Oktober 2000

Einleitung

Isothiazolinone, eine Mischung aus 5-Chlor-2-methyl-4-isothiazolin-3-on (MCI) und 2-methyl-4-isothiazolin-3-on (MI), werden als Topfkonservierungsmittel für wässrige Anstrichstoffe weitverbreitet eingesetzt. Zusammen mit der allergologischen Poliklinik Basel konnten wir zeigen, dass nach einem Neuanstrich eine allergene Wirkung v.a. durch MCI über die Luft möglich ist (1, 2). Nach heutigem Wissensstand sind bei frisch gestrichenen Wohnungen diejenigen Personen von allergischen Reaktionen betroffen, bei denen bereits früher Hautbeschwerden wegen Kosmetika (z.B. Duschgels oder Cremes) aufgetreten sind (3). Auch kosmetische Produkte können nämlich Isothiazolinone zur Konservierung enthalten. Im Gegensatz zu Farben müssen solche allergieauslösenden Stoffe in Kosmetika deklariert und ein Grenzwert muss eingehalten werden (4). Mit der Umstellung von lösemittelhaltigen auf wässrige Wohnraumfarben wurde ein Problem aus dem Kosmetikabereich in die Wohnstube verlagert. Personen, die auf diese Konservierungsmittel allergisch reagieren, können neu gestrichene Räume erst nach mehreren Wochen bis Monaten beschwerdefrei bewohnen (2, 3, 5–7).

Da gesamtschweizerisch etwa 5% der getesteten Patienten auf MCI sensibilisiert sind (8), besteht möglicherweise ein grösseres Problem. Als Grundlage für eine zukünftige toxikologische Beurteilung der Innenraum-Luftkonzentrationen bzw. für eventuell nötige präventive Massnahmen untersuchten wir 42 Objekte in der Region Basel und Zürich (25 Wohnungen, 9 Büros, 4 Spitalzimmer, 3 Museum, 1 Kindergarten), welche mit wässrigen, MCI-haltigen Innendispersionen frisch gestrichen wurden.

Methode

Prinzip

MI/MCI wird mit 1% Ameisensäure aus der Luft angereichert, mit Toluol extrahiert und mittels GC-NPD/ECD quantifiziert.

Reagenzien und Referenzmaterialien

Kieselgel blau (Fluka 85342), Ameisensäure (Merck 264), Methanol (SDS 09337G16), Wasser entmineralisiert, Natriumsulfat wasserfrei (Na_2SO_4 , Merck 6649.1000), Ethylacetat z.R. (Merck 1.10972), Toluol z.R. (Merck 1.08325), Kathon CG (Christ Chemie, Totalgehalt: 1,49% (1,11% 5-Chlor-2-methyl-4-isothiazolin-3-on, CAS-Nr. 26172-55-4 und 0,38% 2-Methyl-4-isothiazolin-3-on, CAS-Nr. 2682-20-4), 1,2,4,5-Tetrachlorbenzol purum (Fluka 87000), N,N-Diethyldodecanamid 98% (Aldrich 19,419-0).

Probenahme und Probenaufarbeitung

Während der Probenahme (4 bis 16 Stunden) sind Türen und Fenster geschlossen. Die Luft wird mit einem Fluss von 300 bis 400 ml/min (z.B. mit Mass Flowmeter Aalborg GFM-1700 reguliert) durch zwei hintereinander geschaltete Impinger mit je 15 ml Ameisensäure (1% v/v) als Adsorptionslösung für MI/MCI gepumpt. Zum Schutz der Pumpe (z.B. Pumpe SKC 224-PCXR7) vor Feuchtigkeitsschäden wird die Zuluft vor der Pumpe durch blaues Kieselgel geleitet. Vor jeder Probenahme wird der erste Impinger mit 15 ml Adsorptionslösung zur Blindwertbestimmung gespült. Zu Beginn und am Ende der Probenahme wird die relative Luftfeuchtigkeit, die Lufttemperatur und der Durchfluss notiert. Nach der Probenahme wird ein Aliquot der Adsorptionslösung in ein verschliessbares Glasröhrchen überführt und mit Na_2SO_4 bis zur Sättigung versetzt. Danach wird Toluol ($\frac{1}{10}$ Volumen der Adsorptionslösung) mit zwei internen Standards Tetrachlorbenzol und N,N-Diethyldodecanamid (1,6 bzw. 2,0 ng/ μl Toluol) zugegeben und von Hand kräftig geschüttelt. Nach der Phasentrennung wird die obere Toluolphase in den GC eingespritzt.

Gaschromatographische Bestimmung (GC-NPD/ECD)

Carlo Erba GC 8000 mit Datenstation Chromcard und zwei parallel geschalteten Detektoren: N-spezifisch (NPD, 300°C, $\text{N}_2 = 80$ kPa, Luft = 70 kPa, $\text{H}_2 = 55$ kPa); halogenspezifisch (ECD, 300°C, Argon/Methan = 150 kPa); Trenn Säule: DB5 (J&W), 10 m, 0,25 mm i.d., Film 1,0 μm ; Vorsäule und gesplittete Nachsäulen zu NPD bzw. ECD je ca. 0,5 m, 0,25 mm i.d. (J&W) unbelegt, deaktiviert; Trägergas: Helium = 60 kPa; Ofen: 100°C-40°C/min-225°C; 100°C, 1 min; Injektion Splitless/Split (220°C): 2,0 μl , Top Purge 2 ml/min, Bottom Purge 20 ml/min (nach 10 sec).

Kalibrierung und Qualitätskontrolle

Die Kalibrierung mit ECD ist im Bereich von 0,02 bis 0,44 ng/µl für MCI und mit NPD von 0,08 bis 3,0 ng/µl für MI/MCI linear (Korrelationskoeffizient > 0,995). Die Nachweisgrenze ($s/n = 3$) mit NPD beträgt für je MI/MCI 20 pg absolut, mit ECD 2 pg MCI absolut. Die Bestimmungsgrenze mit ECD liegt bei einer Samplingdauer von 16 Stunden für MCI bei 0,01 µg/m³. Die Präzision einer realen Luftanalyse im Konzentrationsbereich von 0,1 µg/m³ beträgt für MCI 5% ($n = 3$). Die Wiederfindungsraten nach dem Ausschütteln von Kalibrierlösungen (0,1–3,4 ng/µl MI/MCI, $n = 6$) mit Adsorptionslösung bewegen sich um $42 \pm 6\%$ (MI) und um $100 \pm 6\%$ (MCI). Der Durchbruch für MCI nach drei Tagen Sammelzeit beträgt max. 10%. Der MCI-Gehalt einer Impingerlösung (0,17 ng/µl) ist bei 5°C während mindestens 50 Tagen stabil.

Resultate und Diskussion

In der Schweiz gibt es zurzeit keine gesetzlichen Grundlagen zur Regelung von Innenraumbelastungen. Zur Beurteilung des gesundheitlichen Risikos durch MCI-Belastungen verwenden wir deshalb zwei provisorische Richtwerte (RW2 und RW1). Diese sind gemäss dem Vorschlag einer deutschen Expertengruppe (AGLMB) vom MAK-Wert (maximale Arbeitsplatzkonzentration MCI = 50 µg/m³) abgeleitet (9). RW2 (0,5 µg/m³) ist ein toxikologisch begründeter Wert und stellt die Grenze zu einer möglichen gesundheitlichen Gefährdung dar. RW1 (0,05 µg/m³) wird als für die Allgemeinbevölkerung langfristig unbedenklicher Wert angesehen. Diese Richtwerte sind rechtlich unverbindlich. Zusätzlich dient uns ein real gemessener, Allergie auslösender Wert im Bereich von RW2 zur Interpretation der Resultate.

Zeitlicher Verlauf der MCI-Raumluftkonzentration nach Neuanstrich

Als Testobjekt zur Bestimmung des zeitlichen Verlaufs der MCI-Konzentration in der Luft diente uns ein frischgestrichener WC-Raum (Abb. 1). Die verwendete handelsübliche Dispersionsfarbe wies zum Zeitpunkt des Anstrichs einen MCI-Gehalt von 22 mg/kg (Herstellerangabe: 8 mg/kg) auf. Die erste Luftmessung erfolgte unmittelbar nach dem zweiten Anstrich. Die hohen Anfangswerte (ca. ¼ MAK-Wert) können mit dem Verhältnis der gestrichenen Fläche zum Raumvolumen ($A/V = 2,8 \text{ m}^{-1}$) erklärt werden, welches verglichen mit 41 anderen untersuchten Objekten (Mittelwert $A/V = 1 \text{ m}^{-1}$) hoch ist. Nur die chlorierte Verbindung MCI, welche gegenüber MI ein grösseres allergenes Potenzial aufweist, wird an die Luft abgegeben (1). Nach 50 Tagen sind immer noch Werte um 0,1 µg/m³ nachweisbar, obwohl entsprechend der Nutzung des Raumes häufig gelüftet wurde.

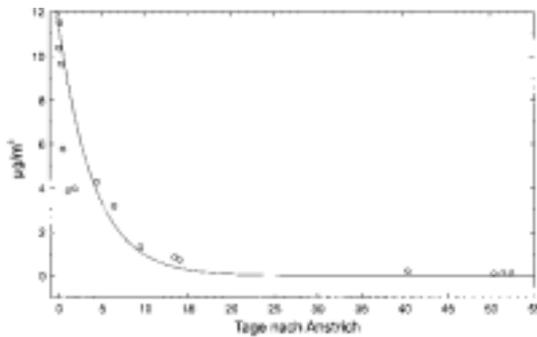


Abbildung 1 **Zeitlicher Verlauf der MCI-Konzentration nach Neuanstrich**
Modell. $y = 11,5 \cdot \exp(-0,25 x)$; $y = \text{Luftkonz. } (\mu\text{g}/\text{m}^3)$; $x = \text{Zeit (Tage)}$

MCI-Raumluftkonzentrationen von 42 Innenräumen (Region Basel und Zürich)

In Abbildung 2 sind die MCI-Raumluftkonzentrationen von 42 verschiedenen Innenräumen als Funktion der Zeit abgebildet (Total 67 Messpunkte). Die fett eingezeichnete logarithmische Kurve dient als Hilfe, um die maximale MCI-Belastung und deren zeitliche Abnahme mit einer Wahrscheinlichkeit von 90 % abschätzen zu können (90 % der Datenpunkte liegen unterhalb der Kurve).

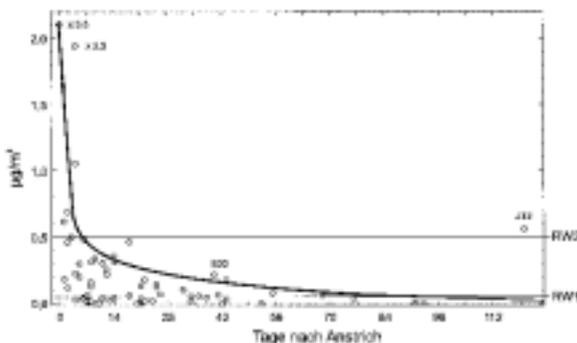


Abbildung 2 **MCI-Luftkonzentrationen von 42 verschiedenen Innenräumen als Funktion der Zeit.** Anzahl Messungen = 67.
 RW1, RW2 = provisorische Richtwerte

Der MAK-Wert für MCI ($50 \mu\text{g}/\text{m}^3$) wird nie überschritten. Die Konzentrationen bewegen sich zwischen $11,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ und $< 0,01 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (approx. Mittelwert $0,4 \mu\text{g}/\text{m}^3$). Generell nehmen die Werte in den ersten Tagen etwa um das 10-fache ab und verbleiben dann für einige Wochen zwischen den zwei Richtwerten RW2 und RW1. Als Ausnahme zeigt Objekt Z12, wo eine Farbe und ein Verputz mit 40 bzw. 46 mg/kg MCI verwendet wurde, noch nach 120 Tagen eine MCI-Luftbelastung im Bereich von RW2 auf. Diese Konzentration erzeugte bei einer MCI-sensibilisierten Bewohnerin die typischen allergischen Symptome (Hautekzem), welche durch einen Hauttest sowohl mit MCI als auch mit der verwendeten Farbe bestätigt werden konnten. Ein Aufenthalt in den gestrichenen Räumen war für die Patientin auch nach 120 Tagen nur kurzfristig und nur unter medikamentöser Behandlung möglich.

Bei Objekt B20 litten zwei Personen unter Hautausschlägen und Schleimhautreizungen. Eine allergologische Abklärung ergab keine positiven Befunde für MCI. Folglich müssen in diesem Fall andere, noch unbekannte Substanzen die Symptome ausgelöst haben.

Zeitliches Expositionsrisiko

Abbildung 3 dient zur Abschätzung des Risikos, dass die Richtwerte RW1 und RW2 als Funktion der Zeit überschritten werden. Während der ersten zwei Tage nach dem Anstrich mit MCI-haltiger Farbe liegen ca. 15 % der Werte über RW2 und ca. 50 % über RW1. Ungefähr nach einem Monat unterschreiten 90 % der Werte den für unbedenklich interpretierten Richtwert RW1.

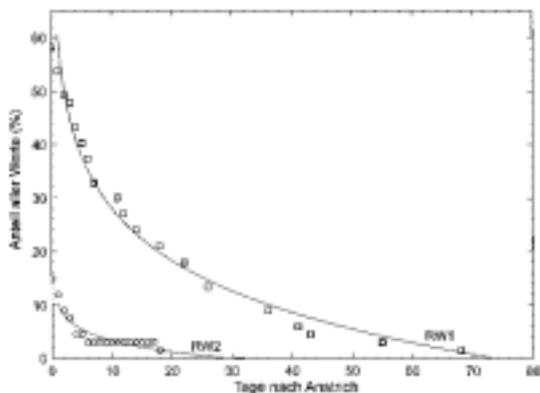


Abbildung 3 Zeitliches Überschreitungsrisiko von RW1 ($0,05 \mu\text{g}/\text{m}^3$) und RW2 ($0,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$)

MCI-Raumluftkonzentrationen in Abhängigkeit der verwendeten Farben

Neben dem Zeitfaktor hängen die MCI-Raumluftkonzentrationen auch von der verwendeten Farbe (Charge und/oder Produzent) und vom Verhältnis der gestrichenen Fläche zum Raumvolumen (A/V) ab. In Abbildung 4 sind die MCI-Raumluftwerte in Abhängigkeit der Farbe bzw. des Produzenten dargestellt. Für die Vergleichbarkeit wurden die Werte standardisiert, indem die Konzentrationen nach sieben Tagen aufgrund der Messpunkte geschätzt und durch $A/V = 1\text{m}^{-1}$ dividiert wurden. Somit wird ersichtlich, dass einzelne Chargen der gleichen Farbe stark streuen können (z.B. P5B, P7A) und dass Farben vom gleichen Produzenten unterschiedliche Raumbelastungen verursachen (z.B. P1A-C, P5A-C). Dieses Emissionsverhalten kann durch die unterschiedliche Stabilität und Dosierung von MCI in den verschiedenen Anstrichstoffen erklärt werden (1).

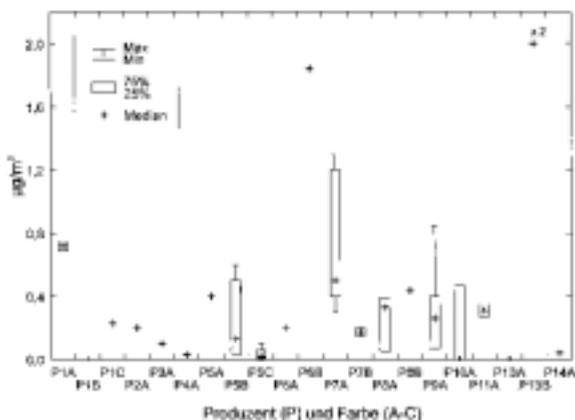


Abbildung 4 MCI-Raumluftkonzentrationen in Abhängigkeit der Anstrichstoffe

Schlussfolgerung

Während der ersten zwei Tage nach einem Neuanstrich führen ca. 15% der MCI-haltigen Innendispersionen zu einer für sensibilisierte Personen problematischen Luftkonzentration. Danach beträgt die MCI-Konzentration noch ca. $\frac{1}{10}$ des Anfangswerts. Daraus kann geschlossen werden, dass ein frisch gestrichener Raum gut gelüftet und sicherheitshalber erst nach ca. zwei Tagen bezogen werden sollte. Mit diesen einfachen Massnahmen kann die Wahrscheinlichkeit einer Überschreitung von RW2 bzw. einer allergieauslösenden Exposition gegenüber MCI schätzungsweise auf ca. 10% reduziert werden. Der untere allergieauslösende Konzentrationsbereich für MCI für die restlichen 10% ist allerdings noch unbekannt.

Zusätzlich gibt es konkrete Hinweise auf eine Ausweitung der Problematik auf andere Substanzen als MCI, welche die gleiche Symptomatik erzeugen können.

Auf jeden Fall muss der Problematik bezüglich Konservierungsmittel in wässrigen Anstrichstoffen weiterhin Beachtung geschenkt werden. Die betroffenen Personen müssen zum Teil stark leiden und können die Räumlichkeiten über Wochen nicht mehr benutzen. Für einen vorsorglichen Gesundheitsschutz wäre zumindest die Deklarationspflicht von Konservierungsstoffen in Anstrichstoffen für den Innenraum eine sinnvolle Massnahme.

Dank

Dieses Projekt wurde vom Bundesamt für Gesundheit konzeptionell und finanziell unterstützt. Nur dank der Mithilfe von staatlichen Behörden, Architekturbüros und Liegenschaftsverwaltungen gelang die praktische Umsetzung. Im weiteren sei den Firmen Carbotech AG, Basel und Oekoscience AG, Zürich für die Probenahmen und Michael Waggmann, Kantonales Laboratorium Basel-Stadt für die GC-Analysen gedankt.

Zusammenfassung

Allergene Isothiazolinone werden als Topfkonservierungsmittel für wässrige Innendispersionsfarben weitverbreitet eingesetzt. Beim Anstrich wird die Raumluft mit bis zu $11,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ Chlormethylisothiazolinon (MCI) belastet (Mittelwert von 42 Räumen: $0,4 \mu\text{g}/\text{m}^3$). Während der ersten zwei Tage erzeugen ca. 15 % der untersuchten Farben MCI-Werte um $0,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Dieser Konzentrationsbereich löste bei einer sensibilisierten Person eine Allergie (Ekzem) aus. Das Emissionsverhalten der Anstrichstoffe variiert hauptsächlich wegen der unterschiedlichen Stabilität und Dosierung von Isothiazolinon in den verschiedenen Produkten stark. Es gibt konkrete Hinweise auf eine Ausweitung der Problematik auf andere, noch unbekannt Substanzen, welche die gleiche Symptomatik wie Isothiazolinone erzeugen können.

Résumé

Les isothiazolinones sont des substances largement utilisées comme agent conservateur dans les peintures à l'eau. Lors de leur utilisation normale, ces peintures se génèrent dans l'air ambiant juste après leur application des concentrations de chlormethylisothiazolinones (MCI) atteignent en moyenne $0,4 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (42 cas, valeur maximale relevée = $11,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$). Les concentrations de MCI pendant les deux premiers jours suivant l'application sont restées autour de $0,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ dans 15 % des cas. A cette concentration cette substance allergisante a provoqué une dermatite de contact chez une personne sensibilisée. L'émission de MCI par les peintures est variable est dépend essentiellement de la stabilité et du dosage des isothiazolinones dans les peintures. D'autres substances allergisantes encore non identifiées ont également été mises en évidence par nos travaux.

Summary "Indoor Air Concentration of Preservatives with an Allergenic Potential (Isothiazolinones) of Newly Painted Rooms"

Allergenic isothiazolinones are widely used as preservatives in water-based wall paints. Newly painted rooms show indoor air levels of chlormethylisothiazolinone (MCI) of up to 11,5 µg/m³ (average of 42 rooms: 0,4 µg/m³). During the first two days 15% of the paints produce MCI-concentrations in the order of 0,5 µg/m³. This concentration provoked an airborne contact dermatitis in a sensitized person. The emissions of the examined paints are very variable because of different chemical stability and concentrations of isothiazolinones in the products. We found some evidence for the existence of other unknown substances which can induce similar symptoms of allergy.

Key words

Methylchloroisothiazolinone, Methylisothiazolinone, Indoor air concentration, Airborne contact dermatitis, Paints, Preservatives

Literatur

- 1 *Niederer, M., Bohn, S. und Bircher, A.J.*: Emission von Isothiazolinonen aus wässrigen Anstrichstoffen als Ursache für gesundheitliche Probleme nach Wohnungssanierungen. *Mitt. Lebensm. Hyg.* **90**, 325–332 (1999).
- 2 *Bohn, S., Niederer, M., Brehm, K. and Bircher, A.J.*: Airborne contact dermatitis from MCI in wall paint. Abolition of symptoms by chemical allergen inactivation. *Contact Dermatitis* **42**, 196–201 (2000).
- 3 *Hausen, B.M.*: Aerogene Kontaktdermatitis durch (Chlor)Methylisothiazolinon (Kathon®) in Wandfarben. *Akt. Dermatol.* **25**, 9–14 (1999).
- 4 Verordnung über Kosmetische Mittel (VKos) vom 26. Juni 1995 (SR 817.042.1). Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale, Bern 1995.
- 5 *Finkbeiner, H. and Kleinhans, D.*: Airborne allergic contact dermatitis caused by preservatives in home-decorating paints. *Contact Dermatitis* **31**, 275–276 (1994).
- 6 *Schubert, H.*: Airborne contact dermatitis due to methylchloro- and methylisothiazolinone (MCI/MI). *Contact Dermatitis* **36**, 274 (1997).
- 7 *Bentrop, I., Gall, H., Beyer, A.V. und Peter, R.U.*: Aerogenes Kontaktekzem auf (Chlor) Methylisothiazolon in einer Wandfarbe. *Allergo J.* **8**, 39–40 (1999).
- 8 *Perrenoud, D., Bircher, A., Hunziker, T., Suter, H., Bruckner-Tuderman, L., Stäger, J., Thürlimann, W., Schmid, P., Suard, A. and Hunziker, N.*: Frequency of sensitization to 13 common preservatives in Switzerland. *Contact Dermatitis* **30**, 276–279 (1994).
- 9 *Roskamp, E.*: Konservierung von Dispersionsfarben. *Umweltmedizinischer Informationsdienst Ausgabe 1* (Umweltbundesamt Berlin, 1998).

Dr. Markus Niederer, Kantonales Laboratorium Basel-Stadt, Postfach,
CH-4012 Basel

Bericht über die Jahrestagung der Food Chemistry Division der Federation of European Chemical Societies

Am 22. und 23. September 2000 fand unmittelbar im Anschluss an die Konferenz «Chemical Reactions in Food IV» in Prag die diesjährige Jahrestagung der Food Chemistry Division (FCD) der Federation of European Chemical Societies (FECS) statt, an der insgesamt 28 Delegierte aus 19 der insgesamt 28 europäischen Mitgliedländer sowie Israel teilgenommen haben. Der Berichterstatter nahm als einziger Schweizer Delegierter an der Arbeitstagung teil. Als Beobachter waren zwei grosse internationale Fachgesellschaften anwesend. Die EFFoST (European Federation of Food Science and Technology) war durch deren Präsidenten, Herrn H.L.M. Lelieveld (Holland), die AOAC International durch Frau M. Lauwaars (Holland) vertreten. Einige der Abwesenden hatten wohl Bedenken, zur gleichen Zeit in Prag zu sein, in der auch der Internationale Währungsfond und die Weltbank ihre grosse Tagung durchführten, an der ca. 18000 Teilnehmer und mindestens ebenso vielen Demonstranten erwartet wurden. Leider musste sich auch der Präsident der FECS, Dr. Reto Battaglia (Schweiz), wegen geschäftlicher Verpflichtungen entschuldigen.

Die Sitzung wurde zum ersten Mal vom neuen Präsidenten der FECS-FCD, Dr. Roger Fenwick (Norwich, UK), geleitet. Dr. Fenwick's Einstand als Präsident fiel sehr positiv aus, er hat die Sitzung sehr umsichtig und effizient, aber auch mit einer Prise englischem Humor geleitet. Die reich befrachtete Traktandenliste wurde in zwei intensiven halbtägigen Sessionen dank guter Vorbereitung und Redediziplin der Delegierten durchgearbeitet. Die folgenden Ausführungen geben einige dem Berichterstatter wichtig erscheinende Diskussionspunkte wieder. Sie sind nicht als vollständiges Protokoll der Veranstaltung zu verstehen.

Die diesjährige Arbeitstagung war zwei Hauptthemen gewidmet. Zum einen wurde der Auftritt der FCD im Internet ausführlich diskutiert. Schliesslich wurde beschlossen, eine dreiköpfige Arbeitsgruppe einzusetzen, welche innerhalb der nächsten sechs Monate einen konkreten Vorschlag ausarbeiten soll, der dann im Zirkulationsverfahren von den Delegierten «abgesegnet» werden soll. Ziel ist, bis in einem Jahr den Auftritt im Internet zu etablieren. Als Mitglied dieser Arbeitsgruppe ist der Berichterstatter für Ideen, Anregungen sowie auch praktische Hilfe beim Erstellen der FCD-Homepage und der «links» zu den nationalen Gesellschaften dankbar.

Obwohl der bereits einige Male diskutierte Entwurf eines universitären Euro-curriculums «Lebensmittelchemie» (siehe Z. Lebensm.-Unters.-Forsch. A 204 (1997) F3–F6 sowie Bericht des CH-Delegierten in Chimia 53, 633 (1999)) dieses Jahr nicht auf der Traktandenliste stand (die europaweite und auch schweizerische Realisierung dieses Curriculums wird wohl noch einige Zeit auf sich warten lassen), wurde dem Thema «Förderung der Jugend» im Bereich Lebensmittelchemie und angrenzende Gebiete viel Zeit gewidmet.

Sowohl zeitlich als auch inhaltlich war die Erarbeitung einer Vision für die zukünftigen Aktivitäten der FCD zweites Haupttraktandum der Arbeitssitzung. Die vom Präsidenten mittels eines Fragebogen ermittelten Schwerpunkte wurden intensiv diskutiert. Aus der Fülle von Absichtserklärungen seien die folgenden stichwortartig herausgegriffen:

- Hauptpunkt unserer Bestrebungen muss sein, den wissenschaftlichen Nachwuchs für unser Fachgebiet zu begeistern und ihm die Möglichkeit zu geben, sich fachlich weiterzubilden (z.B. an Spezialtagungen für Nachwuchskräfte, durch Aufenthalte von wenigen Monaten bis zu einem Jahr an renommierten universitären, staatlichen und privaten Institutionen usw.). Zu diesem Punkt darf eine erste konkrete Aktion erwähnt werden. Im Rahmen des horizontalen INCO Programmes der EU wurde der Division of Food Science des Institute of Animal Reproduction and Food Research der Polish Academy of Science in Olsztyn (Polen) vor kurzem der Status eines «Centre of Excellence» im Bereich «Food and Health» verliehen. Im Rahmen dieses Programmes, das drei Jahre dauern wird, werden neben Workshops und Konferenzen auch Weiterbildungsaufenthalte in den hochmodernen Laboratorien des Instituts angeboten. Informationen zu diesem Projekt sind im Internet unter der Adresse www.pan.olsztyn.pl erhältlich. Die wissenschaftliche Koordinatorin des Projektes, Frau Prof. Halina Kozłowska (E-mail: haka@pan.olsztyn.pl) ist gerne bereit Fragen zu beantworten.
- Jugendförderung wird auch durch Anbieten von stark reduzierten Teilnehmergebühren bei allen von der FCD der FECS organisierten Konferenzen betrieben. Zudem sind im Rahmen der Euro Food Chem XI Konferenz im Herbst 2001 in Norwich verschiedene spezielle Aktivitäten für Studierende und Doktoranden vorgesehen.
- Kommunikation wird in Zukunft in der FCD hohe Priorität einnehmen. Der Auftritt im Internet soll dabei als Informationsquelle dienen.
- Kontakte zu Organisationen, wie z.B. AOAC International, EFFoST u.a., sollen intensiviert werden. Gemeinsame Veranstaltungen, in denen intradisziplinär Anliegen der Lebensmittelchemie und angrenzender Gebiete diskutiert werden, sollen durchgeführt werden. Eine enge Zusammenarbeit mit der Europäischen Kommission wird ebenfalls angestrebt.

Es ist zu hoffen, dass die vielen Absichtserklärungen im Laufe des kommenden Jahres umgesetzt werden können, so dass der Berichterstatter im nächsten Jahr

von ersten Erfolgen sprechen kann. Eine aktive Diskussion unter den Mitgliedern der schweizerischen «Lebensmittelchemie-Szene», sowohl in der NSCG (über die SGLUC) als auch im Swiss Food Net (zusammen mit Partnern aus Lebensmittelwissenschaft und -technologie, -Hygiene und Ernährung sowie Fachhochschulen, Bundesämtern und Lebensmittelindustrie) ist sehr erwünscht. Kommentare, Anregungen, Vorschläge nimmt der Berichterstatter gerne entgegen (E-mail: renato.amado@ilw.agrl.ethz.ch)

Eine wichtige Aufgabe der FCD ist und wird auch in Zukunft die Durchführung bzw. Co-organisation von internationalen Workshops und Konferenzen zu lebensmittelchemisch relevanten Themen bleiben. Verschiedene, mit der Etikette «FECS-event» zu versehende Veranstaltungen wurden von nationalen Delegierten vorgestellt und in den Tagungskalender aufgenommen. Folgende von der FCD der FECS mitgetragene Tagungen werden durchgeführt:

11.–13. März 2001	Food Allergenicity*	Venezia (ITA)
30. Mai – 1. Juni 2001	Bioavailability 2001*	Interlaken (SUI)
14.–16. Juni 2001	In Vino Analytica Scientia II*	Bordeaux (FRA)
26.–28. September 2001	EuroFood Chem XI*	Norwich (UK)
11.–14. Juni 2002	Functionalities of Pigments in Food*	Lisabon (POR)

Von den mit einem * bezeichneten Veranstaltungen sind weitere Informationen beim Berichterstatter (Adresse siehe unten) erhältlich. Auf die übrigen Veranstaltungen wird rechtzeitig in der *Chimia* hingewiesen. Dem Berichterstatter sei erlaubt, als Mitorganisator der primär vom Institut für Lebensmittelwissenschaft der ETHZ zu organisierenden Tagung «Bioavailability 2001» einen Werbespot anzubringen. Ausführliche Informationen, inklusive einer E-mail-Adresse wo Fragen gestellt und Voranmeldungen deponiert werden können, sind unter der Adresse www.ilw.agrl.ethz.ch/hu/bio2001/main.html im Internet zu finden.

Prof. Dr. Renato Amadò, Institut für Lebensmittelwissenschaft, ETH-Zentrum, Schmelzbergstrasse 9, CH-8092 Zürich, Tel. 01 632 32 91,
E-mail: renato.amado@ilw.agrl.ethz.ch

Chemie in Lebensmitteln

Rückstände, Verunreinigungen, Inhalts- und Zusatzstoffe

Johannes Friedrich Diehl

Wiley-VCH, Weinheim 2000. XI, 332 Seiten mit 47 Abbildungen und 42 Tabellen, 16×24 cm, broschiert, Preis sFr. 70.00 (ISBN 3-527-30233-6)

Es gibt wohl kaum einen berufeneren Wissenschaftler, um das obgenannte Thema kompetent und objektiv abzuhandeln als den Autor, der viele Jahre Leiter der Bundesforschungsanstalt für Ernährung in Karlsruhe war und sich jetzt im «Ruhestand» befindet. Das mit fundiertem wissenschaftlichem Hintergrund, jedoch für einen eher breiten Leserkreis verfasste Buch kann einerseits als spannende und teilweise amüsante Lektüre, andererseits als Nachschlagewerk für Ernährungsberater, Ärzte, Apotheker, Lebensmittelwissenschaftler, Agronomen und Chemiker dienen. Aber auch Studenten der erwähnten Wissenschaften, den berufsmässigen, sogenannten Konsumentenschützern sowie den auf Lebensmittel spezialisierten Recherchier-Medienfachleuten dürfte dessen Studium kaum schaden!

Das Buch ist mit seinen neun Kapiteln, 47 Abbildungen und 42 Tabellen übersichtlich und klar gegliedert. Die Kapitel enthalten eine Fülle fachtechnischer Informationen, Vergleiche und Diskussionen, wobei bei Situationsbeschreibungen neben Deutschland häufig auch auf die Schweiz eingetreten wird: Ein Blick zurück in die «gute alte Zeit» (10 S.), Grundbegriffe (28 S., Toxikologie, ADI-Konzept, Höchstkonzentrationen, Epidemiologie), Rückstände (54 S., Pflanzenschutzmittel, Tierarzneimittel, Futterzusätze, Lösungsmittel, Migrationsstoffe), Verunreinigungen (44 S., chemische Elemente, polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe, polychlorierte Biphenyle, Dioxine, Moschusduftstoffe), Nitrat (16 S., Dünger, Nitrat, Nitrit, endogene Nitrosaminbildung, Methämoglobinämie), in Lebensmitteln entstehende Reaktionsprodukte (23 S., Nährwertverluste, Maillardprodukte, heterocyclische aromatische Amine, Lysinoalanin, D-Aminosäuren, Chlorpropanole, trans-Fettsäuren, Ethylcarbamate), Naturstoffe (41 S., toxische Pflanzeninhaltsstoffe: Glykoalkaloide, Pyrrolizidinalkaloide, Chinolizidinalkaloide, blausäurehaltige Glykoside, Lectine, lathyrogene Substanzen, Enzyminhibitoren, Phytoestrogene, goitrogene Substanzen, Mykotoxine und Alkohol, toxische Stoffe in Meerestieren), Lebensmittelzusatzstoffe (28 S., Definition, Recht, gesundheitliche Bedenken, Warnungen der Verbraucherschutzzentralen, tägliche Zufuhr, funktionelle Lebensmittel, Empfehlungen zur Nährstoffzufuhr), Ernährung und Gesundheit (34 S., Überfluss/Hunger, Indikatoren der Volksgesundheit, Ernährung und

Krebs, Pseudoallergien, Syndrome, desinformierte Gesellschaft, kein Grund, die Hände in den Schoß zu legen) und eine Bibliographie mit 805 Zitaten. Ein Sachregister, in welchem auch Stichworte wie Rohkost, Quercetin, BADGE oder selenreicher US-Weizen zu finden sind, erleichtert den Gebrauch des Buches als Nachschlagewerk.

Dem Autor ist daran gelegen, sämtliche «Probleme», die in den letzten 30 Jahren im Zusammenhang mit «Chemie in der Nahrung» auch in der Öffentlichkeit diskutiert wurden, wissenschaftlich ins «rechte Licht» zu rücken, ohne diese zu verniedlichen. Dieses Anliegen sowie die Risikovergleiche synthetischer Stoffe mit gesundheitsgefährdenden Naturstoffen prägen dieses Werk, das sich in seiner Kompetenz und Objektivität deutlich von jenen einer anderen Kategorie (z.B. «Iss und Stirb», «Gift im Kochtopf» oder «Was wir alles schlucken») abhebt. Verschiedentlich wird auch deutlich gemacht, dass die für lebensmittelrechtliche Regelungen zuständigen Behörden gelegentlich auch unter Druck gesetzt werden, sei dies von Konsumentenvertretern, Vollzugsorganen und/oder gewissen Medien. Zudem wird an Beispielen aufgezeigt, welche Auswirkungen die Ergebnisse von voreiligen behördlichen Risikoabschätzungen, die auf wissenschaftlich wenig fundierten Daten beruhen, letztlich haben können.

Die heute existierende Desinformation der Bevölkerung, insbesondere der deutschsprachigen, was die gesundheitliche Qualität der Lebensmittel betrifft, ist sicher teilweise auch der inflationären Verwendung des Begriffs «Belastung», dem stets etwas Negatives anhaftet sowie jenem der «Schadstoffe» zuzuschreiben; als ob nicht jeder Stoff ab einer gewissen Konzentration erst zum Schadstoff wird (Paracelsus). Allerdings hat der Begriff «Schadstoffe» bereits Eingang in die schweizerische und deutsche Gesetzgebung gefunden!

Das vorliegende, von Druckfehlern weitgehend freie Werk kann allen an Lebensmitteln interessierten Kreisen wärmstens zur Anschaffung empfohlen werden, dies um so mehr als auch sein Preis, in Anbetracht der Qualität des Inhalts, eher bescheiden ist.

B. Zimmerli

Schweizerische Gesellschaft für Lebensmittel- und Umweltchemie

Die Schweizerische Gesellschaft für Lebensmittel- und Umweltchemie (SGLUC) strebt die Förderung der analytischen und angewandten Chemie an, insbesondere der Lebensmittelchemie, der Umweltchemie und verwandter Gebiete. Diese Ziele werden durch die Abhaltung regelmässiger wissenschaftlicher Jahrestagungen sowie Fachtagungen und durch die Veranstaltung von Fachexkursionen erreicht.

Neben Hauptvorträgen können an den Jahresversammlungen von den Mitgliedern der Gesellschaft auch Kurzvorträge gehalten werden.

Die Jahresversammlung 1999 war dem Thema «Lebensmittelverpackungen heute und morgen» gewidmet und wurde zusammen mit der SGLWT in Stein am Rhein durchgeführt.

Die «Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene» sind als offizielles Publikationsorgan der Gesellschaft *im Mitgliederbeitrag* inbegriffen.

Die Gesellschaft zählt etwa 500 Mitglieder, erreicht aber einen grösseren Kreis von Fachleuten, da sie mit anderen wissenschaftlichen Gesellschaften eng zusammenarbeitet. Der Mitgliederbeitrag beträgt für Einzelmitglieder im Inland Fr. 45.–, im Ausland Fr. 50.–, für Kollektivmitglieder Fr. 100.–.

Werden Sie Mitglied der Gesellschaft!

Füllen Sie das untenstehende Anmeldeformular aus und senden Sie es an den Präsidenten der SGLUC, Dr. J.-L. Luisier, Kantonslaboratorium, Rue Pré-d'Amédée 2, CH-1950 Sitten.

Der (die) Unterzeichnete ersucht um Aufnahme als Einzelmitglied/Kollektivmitglied* in die Schweiz. Gesellschaft für Lebensmittel- und Umweltchemie.

Name: _____ Vorname: _____

Korrekte Berufsbezeichnung: _____

Tätigkeit: _____

Zustelladresse: _____

Firma: _____

Datum: _____ Unterschrift: _____

* Zutreffendes unterstreichen

Société suisse de chimie alimentaire et environnementale

La Société suisse de chimie alimentaire et environnementale (SSCAE) s'efforce de promouvoir la chimie analytique et appliquée, en particulier dans le secteur de la chimie des denrées alimentaires, de la chimie environnementale et des domaines apparentés. Ces objectifs sont atteints par l'organisation régulière d'assemblées annuelles de caractère scientifique, de colloques spécialisés, ainsi que par l'organisation d'excursions techniques.

Lors des assemblées annuelles, à côté des conférences principales, des exposés plus courts peuvent également faire l'objet d'une présentation par les membres de la Société.

Le thème principal de l'assemblée annuelle de 1999 était «Les emballages des denrées alimentaires aujourd'hui et demain». La conférence était organisée en collaboration avec la Société suisse des sciences et technologies alimentaires à Stein am Rhein.

Les «Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène» sont l'organe de publication officiel de la Société; *l'abonnement est inclus dans la cotisation des membres.*

La Société compte environ 500 membres; elle atteint toutefois un cercle plus étendu de spécialistes, car elle travaille en collaboration étroite avec d'autres sociétés scientifiques. La cotisation annuelle s'élève à fr. 45.– par membre individuel en Suisse, à fr. 50.– à l'étranger et à fr. 100.– pour les membres collectifs.

Devenez membre de la Société!

Remplissez le bulletin d'inscription ci-dessous et adressez-le au président de la SSCAE, Dr J.-L. Luisier, Laboratoire cantonal, Rue Pré-d'Amédée 2, CH-1950 Sion.

Le (la) soussigné(e) demande son admission à la **Société suisse de chimie alimentaire et environnementale** en qualité de membre individuel/collectif*.

Nom: _____ Prénom: _____

Profession, désignation complète: _____

Activité: _____

Adresse: _____

Employeur: _____

Date: _____ Signature: _____

* Souligner ce qui convient

Autorenregister – Table des auteurs – Author Index

Seite – Page

<i>Aebischer, Jean-Nicolas</i> voir Roth, Thomas	
<i>Aeppli, Christoph</i> siehe Guggisberg, Dominik	
<i>Amadò, Renato</i> voir Luisier, Jean-Luc	
<i>Amberg-Müller, Judith</i> : Pheromone in kosmetischen Produkten – Die Beeinflussung des anderen Geschlechts mit körpereigenen menschlichen Duftstoffen	597
<i>Amstutz, Richard</i> see Andrey, Daniel	
<i>Andrey, Daniel</i> and <i>Amstutz, Richard</i> : Determination of pesticide residues in “organic” wines on the Swiss market	300
<i>Auckenthaler, Adrian</i> siehe Noser, Jürg	
<i>Azodanlou, Ramin</i> voir Luisier, Jean-Luc	
<i>Battaglia, Reto</i> : Schnellmethoden in der Lebensmittelverarbeitung und im Lebensmittelhandel: Anwendungen und Bedürfnisse	648
<i>Beuggert, Hans</i> see Biedermann, Maurus	
<i>Biedermann, Maurus, Wagner, Christoph, Grob, Koni, Imhof, Daniel</i> and <i>Beuggert, Hans</i> : Bisphenol-A-diglycidyl ether (BADGE) and novolak glycidyl ether (NOGE) as additives in can coatings	274
<i>Biedermann, Maurus</i> see Brem, Sandra	
<i>Biedermann, Maurus</i> see Wagner, Christoph	
<i>Bisig, Brigitte</i> siehe Eichholzer, Monika	
<i>Blanc-Mompant, Annabelle</i> siehe Zimmerli, Bernhard	
<i>Bono, Roland</i> siehe Frossard, Roger	
<i>Bosset, Jacques Olivier, Gubler, Matthias, Bütikofer, Ueli</i> and <i>Gauch, Roland</i> : Mono-, di- and trimethyl benzene in frozen cheese samples: Natural metabolites or environmental pollutants?	287
<i>Bosset, Jacques Olivier</i> voir Dafflon, Oscar	
<i>Bosset, Jacques Olivier</i> see Schaller, Emmanuelle	
<i>Botzenhart, Konrad</i> : Viren als Erreger wasserbedingter Infektionen	26
<i>Brem, Sandra</i> and <i>Grob, Koni</i> : Migration of novolak glycidyl ether (NOGE) and its chlorohydrins into aqueous canned foods	551
<i>Brem, Sandra, Biedermann, Maurus, Grob, Koni</i> and <i>Spinner, Christoph</i> : Migration from the internal coatings of food cans and the lids of glass jars: Campaign 2000 on the Swiss market	567
<i>Bühler, Tina</i> voir Collomb, Marius	
<i>Buser, Andreas</i> siehe Frossard, Roger	
<i>Bütikofer, Ueli</i> see Bosset, Jacques Olivier	

<i>Buxtorf, Urs</i> see <i>Grob, Koni</i>	
<i>Clément, André</i> see <i>Daniel, Raoul Charles</i>	
<i>Collomb, Marius</i> et <i>Bühler, Tina</i> : Analyse de la composition en acides gras de la graisse de lait. 1. Optimisation et validation d'une méthode générale à haute résolution	306
<i>Cominoli, André</i> voir <i>Edder, Patrick</i>	
<i>Corvi, Claude</i> voir <i>Edder, Patrick</i>	
<i>Corvi, Claude</i> voir <i>Khim-Heang, Sophal</i>	
<i>Dafflon, Oscar, Scheurer, Laurence, Koch, Herbert</i> et <i>Bosset, Jacques Olivier</i> : Le dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques nitrés dans le poisson, les produits carnés et le fromage par chromatographie liquide à haute performance	158
<i>Dahinden, Isabelle, Stadler, Markus, Lüthy, Jürg</i> and <i>Pauli, Urs</i> : Evaluation of a real-time PCR to detect coeliac-toxic components and comparison to the ELISA method analysing 35 baby food samples	723
<i>Daniel, Raoul Charles, Lischer, Peter, Paul, Jean Léon, Clément, André</i> and <i>Theiler, Gédéon</i> : Plant reference materials for inorganic chemical analysis; are they still stable after 20 years?	333
<i>Dieffenbacher, Albrecht</i> see <i>Grob, Koni</i>	
<i>Dudler, Vincent</i> voir <i>Roth, Thomas</i>	
<i>Edder, Patrick, Cominoli, André</i> et <i>Corvi, Claude</i> : Dosage HPLC des résidus de spiramycine, tilmicosine et tylosine dans les denrées alimentaires d'origine animale	172
<i>Eichholzer, Monika, Bisig, Brigitte, Gutzwiller, Felix</i> und <i>Lüthy, Jürg</i> : Aktuelle Ernährungsprobleme in der Schweiz. Resultate der Schweizerischen Gesundheitsbefragung 1997	251
<i>Escher, Felix</i> see <i>Schaller, Emmanuelle</i>	
<i>Fent, Karl</i> : Hormonaktive Stoffe in Gewässern: Auch eine Gefahr fürs Trinkwasser?	11
<i>Frossard, Roger, Bono, Roland, Schmutz, Daniel, Buser, Andreas, Simon, Pascal, Wenk, Peter</i> und <i>Schaub, Hans</i> : Cadmium in acht Weizensorten – Ergebnisse eines Anbauversuchs in Nenzlingen, Basel-Landschaft	473
<i>Gauch, Roland</i> see <i>Bosset, Jacques Olivier</i>	
<i>Grob, Koni, Suter, Bea, Buxtorf, Urs</i> and <i>Dieffenbacher, Albrecht</i> : Determination of total fat and fatty acid composition through 1-min transesterification directly in foods: Collaborative studies	224
<i>Grob, Koni</i> see <i>Biedermann, Maurus</i>	
<i>Grob, Koni</i> see <i>Brem, Sandra</i>	
<i>Grob, Koni</i> see <i>Wagner, Christoph</i>	
<i>Grütter, Peter</i> : Vollzug der lebensmittelrechtlichen Bestimmungen im Bereich Trinkwasser	65

<i>Gubler, Matthias</i> see <i>Bosset, Jacques Olivier</i>	
<i>Guggisberg, Dominik, Aeppli, Christoph und Koch, Herbert:</i> Fluoreszenzdetektion von Dihydrostreptomycin und Streptomycin in Fleisch, Leber und Niere mit HPLC und Nachsäulenderivatisierung	539
<i>Gutzwiller, Felix</i> siehe <i>Eichholzer, Monika</i>	
<i>Haldimann, Max</i> siehe <i>Zimmerli, Bernhard</i>	
<i>Hartmann, Armon:</i> Trinkwasser in Entwicklungsländern	93
<i>Hoehn, Eduard:</i> Übersicht über das Grundwasser, die wichtigste Trinkwasser- Ressource der Schweiz	3
<i>Imhof, Daniel</i> see <i>Biedermann, Maurus</i>	
<i>Ineichen, Otto</i> siehe <i>Limacher, Werner</i>	
<i>Kaufmann, Anton, Pacciarelli, Bruno, Roth, Sven and Ryser, Bianca:</i> Determination of some ionic additives in meat products by ion chromatography	581
<i>Khim-Heang, Sophal et Corvi, Claude:</i> Programme de surveillance de la teneur en métaux des denrées alimentaires: Plomb, cadmium, cuivre et zinc dans les salades laitues	186
<i>Klein, Bernard et Meier, Pierre:</i> Dithiocarbamates et sulfure de carbone dans les produits en caoutchouc naturel	240
<i>Koch, Herbert</i> siehe <i>Guggisberg, Dominik</i>	
<i>Koch, Herbert</i> voir <i>Dafflon, Oscar</i>	
<i>Kuchen, Arnold</i> voir <i>Roth, Thomas</i>	
<i>Liebich, Bernard W.:</i> Etude approfondie de la contraction dans les mélanges alcools-eau. Partie 2: Nouvelle méthode pour le calcul, la représentation et l'application de la contraction partielle aux mélanges éthanol-eau	700
<i>Limacher, Werner, Ineichen, Otto und Stephan, Roger:</i> Selbstkontrolle im kleingewerblichen Schlacht- und Metzgereibetrieb. Teil A: Ein Konzeptvorschlag zur Umsetzung von Artikel 23 LMG erarbeitet in Zusammenarbeit mit Pilotbetrieben aus dem Kanton Luzern	116
<i>Limacher, Werner</i> siehe <i>Stephan, Roger</i>	
<i>Liniger, Marianne</i> see <i>Pauli, Urs</i>	
<i>Lischer, Peter</i> see <i>Daniel, Raoul Charles</i>	
<i>Luisier, Jean-Luc, Villettaz, Jean-Claude, Azodanlou, Ramin et Amadò, Renato:</i> Solid phase micro-extraction (SPME) à détection directe, une nouvelle dimension analytique	690
<i>Lüthy, Jürg</i> see <i>Dahinden, Isabelle</i>	
<i>Lüthy, Jürg</i> see <i>Wolf, Christian</i>	
<i>Lüthy, Jürg</i> siehe <i>Eichholzer, Monika</i>	
<i>Matissek, Reinhard:</i> Schnellmethoden in der Lebensmittelanalytik: Möglich- keiten und Grenzen - Eine Übersicht	659
<i>Meier, Pierre</i> voir <i>Klein, Bernard</i>	

<i>Niederer, Markus</i> : Allergene Konservierungsmittel (Isothiazolinone) in der Luft von frisch gestrichenen Räumlichkeiten	733
<i>Noser, Jürg, Sutter, Alfred und Auckenthaler, Adrian</i> : Moschusverbindungen: Brauchbare Indikatoren für Trinkwasserverunreinigungen?	102
<i>Obst, Ursula</i> : Biochemische Methoden zum Nachweis mikrobieller Parameter in Trinkwasser	74
<i>Pacciarelli, Bruno</i> see Kaufmann, Anton	
<i>Paul, Jean Léon</i> see Daniel, Raoul Charles	
<i>Pauli, Urs, Liniger, Marianne, Zimmermann, Andreas, Schrott, Martin and Schouwey, Brigitte</i> : Extraction and amplification of DNA from 55 foodstuffs	491
<i>Pauli, Urs</i> see Dahinden, Isabelle	
<i>Roth, Sven</i> see Kaufmann, Anton	
<i>Roth, Thomas, Aebischer, Jean-Nicolas, Dudler, Vincent, Kuchen, Arnold et Zimmermann, Hans</i> : Influence des produits de dégradation des matériaux d'emballage sur les aliments: formation et diffusion du p-méthylbenzaldehyde dans le polypropylène	131
<i>Rupp, Heinz, Zoller, Otmar und Zimmerli, Bernhard</i> : Bestimmung der Isoflavone Daidzein und Genistein in sojahlaltigen Produkten	199
<i>Ryser, Bianca</i> see Kaufmann, Anton	
<i>Schaller, Emmanuelle, Bosset, Jacques Olivier and Escher, Felix</i> : Feasibility study: Detection of "rind taste" off-flavour in Swiss Emmental cheese using an "electronic nose" and a GC-MS	610
<i>Schaub, Hans</i> siehe Frossard, Roger	
<i>Scheurer, Laurence</i> voir Dafflon, Oscar	
<i>Schmutz, Daniel</i> siehe Frossard, Roger	
<i>Schouwey, Brigitte</i> see Pauli, Urs	
<i>Schrott, Martin</i> see Pauli, Urs	
<i>Simon, Pascal</i> siehe Frossard, Roger	
<i>Snozzi, Mario</i> : Neue Konzepte und Methoden für die mikrobiologische Qualitätssicherung des Trinkwassers	44
<i>Spinner, Christoph</i> see Brem, Sandra	
<i>Stadler, Markus</i> see Dahinden, Isabelle	
<i>Stephan, Roger und Limacher, Werner</i> : Selbstkontrolle im kleingewerblichen Schlacht- und Metzgereibetrieb. Teil B: Mikrobiologische Verifikationskontrollen nach Reinigung und Desinfektion in Kleinschlachtbetrieben als Teil der Selbstkontrolle nach Artikel 30 FHv	234
<i>Stephan, Roger</i> : Schlachthygienemonitoring als Teil der Selbstkontrolle. Untersuchungen zum Vorkommen verotoxinbildender <i>Escherichia coli</i> (VTEC) auf Rinderschlachtierkörpern	345
<i>Stephan, Roger</i> siehe Limacher, Werner	

<i>Suter, Bea</i> see Grob, Koni	
<i>Sutter, Alfred</i> siehe Noser, Jürg	
<i>Theiler, Gédéon</i> see Daniel, Raoul Charles	
<i>Tremp, Erwin</i> : Gesetzliche Anforderungen an das Trinkwasser	53
<i>Villetaz, Jean-Claude</i> voir Luisier, Jean-Luc	
<i>Wagner, Christoph, Grob, Koni</i> and <i>Biedermann, Maurus</i> : Migration of novolac glycidyl ether (NOGE) into foods: Analytical problems	146
<i>Wagner, Christoph</i> see Biedermann, Maurus	
<i>Wenk, Peter</i> siehe Frossard, Roger	
<i>Wolf, Christian</i> and <i>Lüthy, Jürg</i> : Development of a PCR-system for detection of rapeseed and other cruciferae	352
<i>Zehringer, Markus</i> : Pestizid-Screening mit GC/MS: Schnelle Entscheidungsfindung für den Vollzug	681
<i>Zimmerli, Bernhard, Haldimann, Max</i> und <i>Blanc-Mompart, Annabelle</i> : Beurteilung der Selenversorgung von Säuglingen in der Schweiz	502
<i>Zimmerli, Bernhard</i> siehe Rupp, Heinz	
<i>Zimmermann, Andreas</i> see Pauli, Urs	
<i>Zimmermann, Hans</i> voir Roth, Thomas	
<i>Zoller, Otmar</i> siehe Rupp, Heinz	

Sachregister* – Index alphabétique – Subject Index

	Seite – Page
Accurate alcoholic solutions preparation	721
Additive	144
Additives to can coatings	286
Airborne contact dermatitis	740
Analysis	305, 330
Analytical methods	676
Aquifer heterogeneity	10
Assemblée annuelle de la Société suisse de chimie alimentaire et environnementale 2000	619
Assessment	534
Beef carcasses	350
Benzaldehyde	698
Benzene derivative	297
Biofilm organisms	90
Bisphenol-A-diglycidyl ether (BADGE)	286, 579
<i>Brassica napus</i>	355
Bücher	124, 246, 356, 744
Butcher shops	123
Cadmium	483
Canned foods	156, 565, 579
Capillary gas chromatography	330
Cell culture	41
Cereals	483
Cheese sample	297
Chemical parameters	64
Chloride	595
CLA	330
Classical quality control	658
Cleaning	238
Collaborative study	232
Concentrations and effects of xenoestrogens	23
Concept proposal	123
Condoms	245

* Bei den Originalarbeiten und Vorträgen wurden die von den Autoren angegebenen Key words übernommen.

Contamination of drinking water	23
Contraction	721
Control of drinking water	90
Contrôle des denrées alimentaires en Suisse en 1999	363
Cosmetics	608
Cruciferin	355
Daidzein	218
Dairy intake	534
Deradation	144
Dihydrostreptomycin	549
Disinfection	238
Dithiocarbamates	245
DNA	355
Drinking water	51, 64, 72, 101, 114
Ecosystem management	10
Electronic nose	615
ELISA	731
Endocrine disruptors	23
Enforcement of the Swiss food law	72
Enteric viruses	41
<i>Enterobacteriaceae</i>	90
<i>Enterococci</i>	90
Ethanol-water mixtures	721
Extraction methods	501
FAME	330
Fast methods	658
Fat content in foods	232
Fatty acid composition	232
Fatty acid methyl esters	232
Fish	698
Fluorescence detection	170, 549
Food	184, 688
Food analysis	676
Food survey	565
Frozen storage	297
GC-MS	615, 688
Genetically modified organism	501
Genistein	218
Gloves	245
Gluten-free baby food	731
Gradient IC	595

Grain	483
Ground water quality	10
Heavy metals	197
HPLC	170, 184
Human	534
Human milk	608
Immunological methods	90
Indicator organisms	51, 72
Indoor air concentration	740
Infant formulas	534
In-process analysis	658
Isoflavones	218
Jahresversammlung der Schweiz. Gesellschaft für Lebensmittel- und Umweltchemie	619
Kidney	549
Lebensmittelkontrolle in der Schweiz im Jahre 1999	363
<i>Legionellae</i>	90
Lettuce	197
Lifestyle factors	271
Liver	549
Livres voir Bücher	
Macro elements	342
Macrolides	184
Meat	595
Meat products	549
Method	305
Methylchloroisothiazolinone	740
Methylisothiazolinone	740
Micro elements	342
Microbial quality	51
Microbiological parameters	64
Microbiological verification	238, 350
Migration	144
Migration of novolac glycidyl ether (NOGE)	565
Milk fat	330
Molecularbiological methods	90
Molecular detection	51
Napin	355
New alcohol-water mixtures calculation	721
New ethanol-water graphical representation	721
Nitrate	595

Nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons	170
Nitrite	595
Nitromusk compounds	114
Nitropolycyclic aromatic hydrocarbons	170
Novolac glycidyl ether (NOGE)	156, 286, 579
Nucleating agent	144
Nutritional problems	271
Off-flavor	144, 615
Organic production	305
Organization type	676
Organosol coatings	156, 286, 565, 579
Own checks	123, 238
Packaging	144
Paints	740
Parings	615
Partial contraction	721
PCR	41
Pesticides	305, 688
Pheromones	608
Plant chemical analysis	342
Polycyclic musk compounds	114
Polyphosphates	595
Post-column derivatization	549
Preseparation by size exclusion chromatography (SEC)	565
Preservatives	740
Prevalence	350
Product release analyses	658
Qualitative PCR	501
Quantitative PCR	731
Radionuclids	64
Rape seed	355
Rapid methods	676
Real-time PCR	731
Reference materials	342
Review	608
Ripening	615
Rubber	245
Salad	197
Sanitation	101
Schweiz. Gesellschaft für Lebensmittel- und Umweltchemie, Jahresversammlung 2000	619

Schweiz. Gesellschaft für Lebensmittelhygiene, Arbeitstagung 1999	1
Screening strategy	688
Selenium	534
Self-control concepts	72
Sensors	698
Sexual attraction	608
Size exclusion chromatography (SEC)	156, 286
Slaughter hygiene	350
Small abattoirs	123
Smoked products	170
Société suisse de chimie alimentaire et environnementale, assemblée annuelle 2000	619
Sociodemographic factors	271
Soil	197, 483
Soy-based products	218
Spiramycin	184
SPME	114, 698
Stability	342
Streptomycin	549
Substitutions type	676
Surface water	114
Swiss Emmental cheese	615
Swiss health survey 1997	271
Swiss legislation	64
Switzerland	218, 271, 534
Tag der jungen Wissenschaftler	625
Teats	245
TFA	330
Tilmicosin	184
Timely analysis	658
Toluene	297
Tracer	114
Trimethyl benzene	297
Trimethylamine	698
Tylosin	184
Varieties	483
Virus detection	41
VOC	698
VTEC	350
Water consumption	101
Water quality	101

Water treatment	41
Waterborne infections	41
Wheat	483
Wine	305
World population	101
Xylene	297