

Über eine neue krystallographische Methode zum Nachweis von Veränderungen in konservierten pflanzlichen Lebensmitteln¹

Von
Hans Frieß.

Mitteilung aus der Reichsforschungsanstalt für
Lebensmittelfrischhaltung in Karlsruhe.

Mit 24 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. Januar 1944.)

Durch Zusetzen von kleinen Mengen organischer Extrakte zu Kupferchloridlösung werden beim Auskrystallisieren unter bestimmten Bedingungen die Krystallisationsbilder so geformt, daß daraus auf die Beschaffenheit der Zusätze geschlossen werden kann.

Diese Methode, die von E. Pfeiffer (1, 2, 3) angegeben worden ist, dient zur Qualitätsprüfung von organischen Produkten, sowie zur Diagnose von Krankheiten. Bis jetzt wurde die Methode besonders von medizinischer Seite angewandt. So berichten S. Rascher und

¹ Vorgetragen bei der vom Forschungsdienst und dem Verein Deutscher Ingenieure veranstalteten Gefriertechnischen Tagung in Karlsruhe am 26. und 27. November 1943.

I. Trumpp (4) von einer erfolgreichen Nachprüfung der Methode bei Krebs in etwa 250 Fällen. Ebenso werden günstige Erfahrungen bei der Krebsdiagnose von P. Bégouin (5) angegeben. E. Pfeiffer (6) hat die Methode für die Diagnose der Tuberkulose an einer größeren Zahl von Organpräparaten und Nährbodenkulturen bestätigt. Die Sicherheit der Diagnose lag in allen diesen Fällen zwischen 80 und 90%.

I. Trumpp und S. Rjascher (7) fanden die Methode auch geeignet zum Nachweis von Hormonen. Sie konnten durch den Nachweis des Hypophysenhormons im Schwangerenurin eine frühzeitige Schwangerschaftsdiagnose daraus entwickeln.

D. L. und C. D. Morris (8) fanden, daß sehr kleine Mengen verschiedener Proteine das Krystallisationsbild des Kupferchlorids, das durch Polysaccharide gebildet wurde, in gleichartiger Weise verändern. Durch Fällung der Proteine mit Essigsäure, sowie durch Acetylierung und Verseifung ergaben sich starke Änderungen des Krystallisationsmusters. Erneute Zugabe von Proteinen stellte die ersten Krystallisationsbilder wieder her. Oberflächenaktive Stoffe, wie Sulfonate, änderten das Krystallisationsmuster in anderer Weise als Proteine. Es ergab sich jeweils eine Überlagerung des eigenen Krystallisationsbildes mit dem der Polysaccharide.

In eigenen Untersuchungen wurde geprüft, ob sich auf diesem Wege auch Veränderungen nachweisen lassen, die in pflanzlichen Produkten durch Erhitzen, Gefrieren, Trocknen und durch Chemikalien verursacht werden.

Die Technik der Methode besteht im wesentlichen darin, daß man 10 ccm einer 5proz. Kupferchloridlösung mit einer bestimmten Menge eines organischen Extraktes gut mischt und auskrystallisieren läßt. Die Menge des Zusatzes wurde hier zwischen 0,1 und 5,0 ccm variiert, dabei erwies sich meist 1,0 ccm bei der unten angegebenen Mikromethode am geeignetsten. Der Extrakt wird so gewonnen, daß man 20 g der betreffenden Frucht im Mörser zerkleinert, mit 20 ccm destilliertem Wasser übergießt, etwa 15 Minuten stehen läßt und dann abfiltriert. Die Krystallisation erfolgt auf sauberen ebenen Glasplatten von 10 cm Durchmesser, die am Rande mit einem Celluloidring versehen werden, so daß Schalen entstehen. Diese Schalen stehen in einem erschütterungsfreien Raum, der eine Temperatur von etwa 30° C und eine Luftfeuchtigkeit unter 60% hat.

Während die oben angeführten Arbeiten auf der Beobachtung makroskopischer Formen der Krystallisationsbilder beruhen, wurden bei diesen Untersuchungen durch mikroskopische Betrachtung neue charakteristische Formen gefunden. In den Zwischenräumen zwischen den großen Krystallen, sowie an deren Enden sieht man ausgeprägte Mikroformen, die artspezifisch gestaltet sind und an denen sich auch die Veränderungen des Zusatzes auswirken. In den folgenden Beispielen sollen nur solche Mikroformen beschrieben werden. Sie wurden durch 45fache Vergrößerung erhalten.

Kupferchlorid ohne Zusatz ergibt ungeordnete Krystalle, wie sie beispielsweise durch Abb. 1 veranschaulicht werden.

Extrakte aus roher Kartoffel als Zusatz ergeben ziemlich breite Krystallformen, die sich seitlich und an den Enden in charakteristischer Art verzweigen (Abb. 2). Dagegen treten beim Zusetzen von Extrakten aus gekochter Kartoffel diese Formen nicht auf. Es finden sich jetzt dünne, lange, wenig verzweigte Krystallnadeln. Die Dauer des Erhitzens spielt dabei keine wesentliche Rolle; schon bei 1 Minute Kochen erhält man fast dieselben Formen wie bei 16 Minuten. Die Krystallnadeln sind nach 1 Minute Kochdauer (Abb. 3) nur etwas breiter und noch nicht so spitz und zerfasert wie nach 16 Minuten (Abb. 4). Die Höhe der Temperatur ist dagegen entscheidend für die Formänderung. Beim stufenweisen Erhitzen auf 50, 60, 70, 80° tritt eine Reihe von Übergangsformen auf (Abb. 5—8). Bei 50° (Abb. 5) sind noch fast keine Änderungen zu sehen, im Vergleich mit den Formen der rohen Kartoffel. Bei 60° (Abb. 6) sind schon starke Veränderungen eingetreten, man sieht aber noch an verschiedenen Stellen die typischen Verzweigungsformen der rohen Kartoffel, nur wesentlich abgeschwächt.



Abb. 1. CuCl_2 , ohne Zusatz.



Abb. 2. Kartoffel, roh.



Abb. 3. Kartoffel, 1 Minute gekocht.



Abb. 4. Kartoffel, 16 Minuten gekocht.



Abb. 5. Kartoffel, erhitzt auf 50° .



Abb. 6. Kartoffel, erhitzt auf 60° .



Abb. 7. Kartoffel, erhitzt auf 70° .



Abb. 8. Kartoffel, erhitzt auf 80° .

Bei 70° (Abb. 7) sind die Formen schon recht ähnlich denen der gekochten Kartoffel, die Nadeln sind aber noch recht breit und enden stumpf. Bei 80° (Abb. 8) sind die Formen denen der gekochten Kartoffel ganz ähnlich. Die stärkste Formänderung liegt also offenbar zwischen 60 und 70°

Entsprechende Erscheinungen lassen sich auch bei anderen Früchten nachweisen. Roter Spargelsaft als Zusatz liefert längliche, wenig verzweigte, Mikrokrystallformen (Abb. 9). Setzt man dagegen Extrakte aus gekochtem Spargel zu, so treten diese Formen nicht auf; es finden sich nur noch dünne, lange, unverzweigte Krystallnadeln. Auch hier ergeben sich bei stufenweisem Erhitzen von 50—80° Übergangsformen, nur ist hier die Übergangszone schmaler. Die stärkste Formänderung liegt auch hier zwischen 60 und 70°. Spargel, erhitzt auf 80° (Abb. 10), liefert fast dieselben Formen wie gekochter Spargel.

Getrocknete Erbsen liefern dagegen beim Erhitzen von 50—80° fast keine Formänderungen im Vergleich zu rohen Erbsen (Abb. 11). Erst nach 24stündigem Quellen in Wasser ergeben sich auch hier diese Formveränderungen beim Erhitzen, wie Abb. 12 zeigt (Erhitzen auf 80°). Diese Beobachtung stimmt überein mit einer Erscheinung, die aus der Biologie bekannt ist. Lepeschkin (9) betont, daß manche Samen in trockenem Zustand das Erhitzen bis 120° ohne Schaden ertragen, während sie in wassergesättigtem Zustand schon bei 60—70° absterben. Die stärkste Formänderung beim stufenweisen Erhitzen liegt auch bei Erbsen zwischen 60 und 70°.

Bei Spinat treten die Veränderungen anscheinend schon bei etwas tieferer Erhitzungstemperatur auf. Im Vergleich zu den Formen, die der rohe Spinat liefert (Abb. 13), zeigen sich schon beim Erhitzen auf 50° Formänderungen. Bei 60° sind die Formen schon sehr ähnlich denen, die bei 70 und 80° erhalten werden. Abb. 14 zeigt das Ergebnis der Erhitzung von Spinat auf 80°. Dieses Verhalten legt es nahe, zu prüfen, ob man bei Spinat, der als Gefrierkonserve zubereitet werden soll, nicht schon mit einer Blanchiertemperatur von 60° auskommen könnte, wodurch auch die Wirkstoffe mehr geschont werden würden.

Grüne Bohnen zeigen in gleicher Weise bei stufenweisem Erhitzen entsprechende Formveränderungen, mit der stärksten Änderung zwischen 50 und 60°.

Mais ergibt ebenfalls starke Formunterschiede zwischen dem rohen und gekochten Zustand (Abb. 15, 16).

Allgemein kann man von der Wirkung des Erhitzens der Früchte sagen, daß nicht die Dauer, sondern die Höhe der Temperatur entscheidend für die Formänderung der Krystallisationsbilder ist. Die stärkste Änderung liegt meist zwischen 60 und 70°, also bei der Temperatur, bei der die meisten lebenden Substanzen abgetötet werden und Eiweiße koagulieren. Die Formänderungen als Folge des Erhitzens erfolgen anscheinend immer in gleichem Sinne, indem die spezifischen Formen verschwinden und sich meist einfache glatte Krystallnadeln finden.

Im Unterschied zum Erhitzen bewirkt das Gefrieren weit geringere Formänderungen, die am besten durch den Vergleich der Formen der roh gefrorenen mit denen der rohen Früchte zu erkennen sind. Die charakteristischen Verzweigungsformen der rohen Kartoffel (Abb. 2) sind bei der roh gefrorenen Kartoffel (Abb. 17) noch zu erkennen, aber sie sind abgeschwächt und geringer an Zahl. Die ganze Form erscheint vereinfacht.

Dieselbe Abschwächung und Vereinfachung der Formen findet man auch bei anderen roh gefrorenen Früchten, z. B. bei Spargel, roh gefroren (Abb. 18), im Vergleich zu Spargel roh (Abb. 9). Die typischen Formen des rohen Spargels sind ebenfalls nach dem Gefrieren noch erhalten, sie sind aber vergrößert und weisen spärlichere Verzweigungen auf. Die gleichen Verhältnisse treten auch bei Erbsen, roh gefroren (Abb. 19), im Vergleich zu Erbsen roh (Abb. 11) auf. Hier sind die Formen an den Enden breiter geworden und teilweise aufgelöst. Die charakteristischen Verzweigungen und spitzen Endformen des rohen Spinats (Abb. 13) sind bei dem roh gefrorenen Spinat (Abb. 20) noch deutlich zu sehen, aber sie sind abgeschwächt und seltener geworden. Mais, roh gefroren (Abb. 21), zeigt ebenso eine Vereinfachung und Verbreiterung der Formen im Vergleich zu Mais roh (Abb. 15).

Allgemein kann man sagen, daß durch das Gefrieren der Früchte die charakteristischen Krystallisationsformen der rohen Früchte nicht zum Verschwinden gebracht werden, wie das beim Erhitzen der Fall ist; aber diese Formen erscheinen infolge der Wirkung des Gefrierens abgeschwächt und vereinfacht. Es läßt sich daraus schließen, daß das Gefrieren einen schonenderen Eingriff als das Kochen bzw. Blanchieren bedeutet. Das auch bei der Herstellung von Gefriergemüse meist angewandte Blanchieren stellt danach den stärksten Eingriff bei diesem Verfahren dar.

Das Gefrieren im Anschluß an das Blanchieren ergibt Formen, die sich von denen der nur blanchierten Früchte kaum unterscheiden, z. B. Spargel, blanchiert gefroren (Abb. 22), vgl. Spargel, blanchiert (Abb. 10).

Das Trocknen der Früchte bewirkt verschieden stark ausgeprägte Veränderungen der Krystallisationsbilder, entsprechend dem Grad des Austrocknens der Früchte. Bei geringem Trocknen, wie es schon durch mehrtägiges Lagern in Zimmertemperatur oft eintritt, zeigt sich auch hier eine Abschwächung der Krystallisationsformen. Zahl und Ausprägung der charakteristischen Einzelformen werden geringer. So liefern z. B. auch Kartoffeln am Ende des Wirtschaftsjahres abgeschwächte Formen, im Vergleich zu Kartoffeln kurz nach der Ernte. Völliges Austrocknen der Früchte ergibt meist schmalere, stark veränderte Krystallisationsformen.

Nach der Einwirkung von Säuren, z. B. konz. Essigsäure, auf die Früchte treten die charakteristischen Krystallisationsformen nicht mehr auf. Es finden sich nur noch stellenweise stark veränderte schmale Formen.

Auf eine Anregung von R. E. Liesegang, Frankfurt, wurden die Versuche durch Zusatz von Gelatine zu den Extrakten erweitert. Es zeigte sich, daß Gelatine allein schon Krystallisationsformen liefert (Abb. 23). Der Zusatz von Gelatine zu den Extrakten ergibt eine Überlagerung der Gelatineformen mit denen der Extrakte, z. B. Gelatine + Erbsen (Abb. 24).

Auch manche andere Stoffe, z. B. Stärke, ergeben bestimmte Krystallisationsformen.

Sortenunterschiede der Früchte prägen sich ebenfalls in kleinen Formveränderungen aus.

Es ist bemerkenswert, daß breitere Mikroformen meist von rohen Gemüsen und Getreide geliefert werden, wogegen verschiedene Obstarten nur schmale Krystallisationsformen ergeben.

Eine Erklärung dieser Krystallisationsformen ist recht schwierig. Krystallographisch können diese Formen vielleicht mit den von V. Kohlschütter (10) als „somatoide Bildungsformen“ bezeichneten Krystallisationen in Beziehung gebracht werden.



Abb. 9. Spargel, roh.



Abb. 10. Spargel, erhitzt auf 80°.



Abb. 11. Erbsen, roh.



Abb. 12. Erbsen, erhitzt auf 80°.



Abb. 13. Spinat, roh.



Abb. 14. Spinat, erhitzt auf 80°.



Abb. 15. Mais, roh.



Abb. 16. Mais, gekocht.



Abb. 17. Kartoffel, roh gefroren.



Abb. 18. Spargel, roh gefroren.

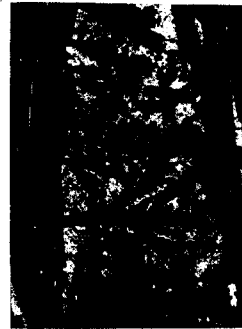


Abb. 19. Erbsen, roh gefroren.



Abb. 20. Spinat, roh gefroren.



Abb. 21. Mais, roh gefroren.



Abb. 22. Spargel, blanchiert gefroren.



Abb. 23. Gelatine.



Abb. 24. Gelatine + Erbsen, roh.

H. Vogelsang (11), der solche Formen zuerst ausführlicher beschrieben hat, hielt sie für Vorstufen der Krystalle und sprach deshalb von Krystallembryonen oder Krystalliten. V. Kohlschütter dagegen bringt sie in Parallele zu organischen Bildungen, indem er sie als „organisierte physikalisch-chemische Einheiten“ betrachtet. Er faßt sie als „anorganische Organismen“ auf und meint, „daß letzten Endes wahrscheinlich dieselben Kräfte, die bei der Gestaltung der somatoiden Formen in Funktion treten, auch die Formung der Organismen besorgen“. Zur Erklärung dieser Formen bestehen im Grunde nur Hypothesen, auf die hier nicht näher eingegangen werden soll.

Zusammenfassung:

Mit Hilfe einer krystallographischen Methode wurden neue charakteristische Mikroformen gefunden, die für verschiedene Früchte artspezifisch gestaltet sind. Die Veränderungen, die diese Früchte durch Erhitzen, Gefrieren, Trocknen und durch Chemikalien erleiden, prägen sich in verschiedenen typischen Änderungen dieser Krystallisationsformen aus.

Literatur.

1. Pfeiffer, E., Krystalle. Stuttgart, Den Haag, London 1930. — 2. Pfeiffer, E., Studium von Formkräften an Krystallisationen. Dornach 1931. — 3. Pfeiffer, E., Empfindliche Krystallisationsvorgänge als Nachweis von Formungskräften im Blut. Dresden 1935. — 4. Rascher, S., u. I. Trumpp: Versuch einer krystallographischen Carcinomdiagnose. Münch. med. Wschr. 1939, H. 14, S. 544. — 5. Begouin, P., Quelques résult. de la meth. des cristallinat. de Pfeiffer dans la diagnost. du ca. et de la tbc. Extr. du Bull. Acad. Med. (Séance du 28. Juin 1938. T. 119. Nr 25). — 6. Pfeiffer, E., Über die Beeinflussung des Krystallisationsbildes von Kupferchlorid durch tuberkulöses Material. Münch. med. Wschr. 1938, Nr 3, 92. — 7. Trumpp, I., u. S. Rascher, Nachprüfung der Pfeifferschen Angaben über die Möglichkeit einer krystallograph. Diagnostik; Versuch einer Hormonoskopie u. Schwangerschaftsdiagnose. Münch. med. Wschr. 1936, Nr 26, 1049. — 8. Morris, D. L. und C. T., Die Änderung des Krystallisationsmusters von Kupferchlorid durch Spuren von Proteinen. J. of biol. Chem. 141, 515. 20. 11. 1941 (Putney School. Vt. Putney School.) (Ref. Chem. Zbl. 1943 I, Nr 23, 2403. 9. VI. 1943.) — 9. Lepeschkin, W. W., Kolloidchemie des Protoplasmas. Dresden u. Leipzig 1938. S. 185. — 10. Kohlschütter, V., C. Egg u. M. Bobtelsky, Über somatoide Bildungsformen. Helvet. Chim. Act. VIII, Basel u. Genf 1925, 457—490 u. 697—723. — 11. Vogelsang, H., Die Krystalliten. Bonn 1875.