

## Veränderungen des Chlorophylls während des Sterilisierens in Weißblechdosen

Von

**K. HEINTZE**

*Mitteilung aus der Bundesforschungsanstalt für Lebensmittelfrischhaltung, Karlsruhe*

Mit 7 Textabbildungen

(Eingegangen am 5. November 1956)

Die chemische Konstitution des Chlorophyllmoleküls ist durch die Arbeiten von WILLSTÄTTER, H. FISCHER, STOLL und CONANT bekannt, und das Interesse wandte sich in der Folgezeit mehr den Eigenschaften im nativen Zustand und der Rolle bei der Photosynthese zu. Viel bearbeitet wurden die Umwandlungen des Chlorophyllmoleküls und seine Abbauprodukte. Über sein Verhalten bei technologischen Prozessen ist dagegen bisher wenig berichtet worden. Letzteres trifft besonders für die Herstellung von Konserven zu, obgleich gerade hier sehr oft Verfärbungen des Blattgrüns eine wichtige Rolle spielen. Am auffälligsten sind diese Farbveränderungen bei Erbsen, Bohnen, Spinat, Grünkohl, Stachelbeeren, Reineclauden und anderen stark chlorophyllhaltigen Konserven. Die hier auftretenden Verfärbungen weisen darauf hin, daß bei den verschiedenen konserventechnischen Maßnahmen mit einem Umbau des Chlorophyllmoleküls zu rechnen ist. Über die Bedingungen, die dazu führen, und die Art der Veränderung ist jedoch wenig bekannt.

WILLSTÄTTER hat gezeigt, daß der natürliche grüne Blattfarbstoff in allen höheren Pflanzen derselbe ist und aus einer Mischung von Chlorophyll a und Chlorophyll b im Mengenverhältnis 3:1 besteht<sup>1</sup>. Das blaugrüne Chlorophyll a besteht aus 4 Pyrrolkernen, die in  $\alpha$ -Stellung durch 4 Methinbrücken ringartig verknüpft sind, so daß ein 16gliedriges Ringsystem entsteht, das sich durch große Stabilität auszeichnet und eine enge Verwandtschaft mit dem Porphingerüst des roten Blutfarbstoffes zeigt. Die beiden im Molekül vorhandenen Carboxylgruppen sind durch die Alkohole Methanol und Phytol verestert; die Ester lassen sich verseifen. Das gelbgrüne Chlorophyll b hat vollkommen gleiche Struktur, mit dem einzigen Unterschied, daß am Pyrrolring II anstelle eines Methylrestes im Chlorophyll a hier ein Aldehydrest vorliegt. Als Zentralatom ist in beiden Chlorophyllarten Magnesium komplex gebunden.

In den Pflanzen liegt das Chlorophyll an Protein gebunden als Chloroplastin vor<sup>2</sup>, und diese Verbindung mit Eiweiß gibt dem Chlorophyll Stabilität gegen Licht und Luftsauerstoff und wohl auch einen gewissen Schutz gegen die in den Pflanzen vorkommenden Säuren. Wird beim Sterilisieren das Eiweiß irreversibel verändert, so wird das Chlorophyllmolekül von seinem Protein getrennt und es wird nun empfindlich gegenüber Licht, Luftsauerstoff, Oxydationsmitteln, stärkeren Basen und besonders gegen Säuren. Die große Empfindlichkeit gegenüber Säuren wird durch das komplex gebundene Magnesium bedingt. Schon bei Einwirkung stark verdünnter Säuren wird das Magnesium abgespalten und durch Wasserstoffatome ersetzt, wobei Phäophytin entsteht. Die Farbe des Chlorophylls a schlägt hierbei von Blaugrün nach Olivgrün, des Chlorophylls b von Gelbgrün nach Bordeauxrot um, so daß im Gemenge, z. B. bei lange erhitzten Erbsen, ein olivgelbgrüner Farbton resultiert. Bei Einwirkung starker Säuren wird neben Magnesium auch das Phytol abgespalten, wobei die Phäophorbide a und b entstehen, die die gleiche Farbe ergeben.

Damit ist bei allen von Natur aus sauren Produkten, wie Obst, die Verfärbung erklärlich. Schwerer ist die Deutung für Gemüse, dessen natürlicher  $p_H$ -Wert um den Neutralpunkt oder nur wenig darunter liegt. In der Konservenindustrie ist jedoch bekannt, daß bei verschiedenen Gütern nach dem Sterilisieren und einer bestimmten Lagerzeit der  $p_H$ -Wert sinkt. Diese Tatsache ist bei Erbsen, Bohnen

<sup>1</sup> WILLSTÄTTER, R., u. A. STOLL: Untersuchungen über Chlorophyll. Berlin: Springer 1913.

<sup>2</sup> STOLL, A., u. E. WIEDEMANN: Chlorophyll. Fortschr. chem. Forsch. 2, 538 (1952).

und Spinat beobachtet worden. Eine Erklärung für das Verhalten der Erbsen ist nicht schwierig, da bekannt ist, daß die Erbse über größere Mengen Pektin verfügt, das beim Erhitzen und nachfolgender Lagerung einer Hydrolyse unterworfen ist. Aus dem Pektin entstehen die Pektinsäure und Methanol. Bohnen und Spinat enthalten zwar weniger Pektin, aber der natürliche  $p_H$ -Wert von frischen Bohnen liegt bei 4,7 bis 5,7 und bei frischem Spinat um 4,8 bis 6,0 also etwas tiefer als der  $p_H$ -Ausgangswert bei grünen Erbsen, der etwa 6,8 bis 7,0 beträgt. Die Tatsache des erniedrigten  $p_H$ -Wertes ist also auf alle Fälle gegeben, und damit ist auch die Phäophytinverfärbung zu erklären.

Gegenüber schwachen Alkalien ist das Chlorophyllmolekül beständig. Auch starke Alkalien verdrängen nicht das Magnesium, sondern verseifen lediglich die beiden Estergruppen, so daß neben den Alkoholen Phytol und Methanol die ebenfalls grünen Chlorophylline entstehen.

### Eigene Versuche

Um nunmehr die Frage nach dem Wirkungsmechanismus der Farbstoffumwandlung beim Erhitzen von nicht saurem Gut zu klären, wurden eine Reihe von Versuchen mit Erbsen ausgeführt. Hierbei ist teils mit den Konserven selbst, teils mit isoliertem Chlorophyll gearbeitet worden.

#### *Arbeitsweise*

Beim Trocknen und Zerreiben chlorophyllhaltiger Pflanzenteile wird das Chlorophyll vom Protein getrennt und kann nun mit Schwefelkohlenstoff, Chloroform, Benzol, Äther, Methanol, Äthanol, Aceton und anderen organischen Lösungsmitteln aufgenommen werden. Diese Lösungsmittel nehmen aber auch die beiden Farbstoffe Carotin und Xanthophyll, die das Chlorophyll stets begleiten, sowie andere Lipoide auf, so daß eine Abtrennung des Chlorophylls sehr erschwert wird. Nach WILLSTÄTTER und STOLL<sup>1</sup> liefert nun ein rasches Extrahieren mit Äthanol, dem 10% Wasser zugesetzt wurde, einen Chlorophyllauszug, der nur geringe Mengen der genannten Begleitstoffe enthält. Zum Entfernen dieser Verunreinigungen wird das Chlorophyll in Petroläther übergeleitet, der Reihe nach mit Aceton, Wasser, Methanol und wieder Wasser ausgeschüttelt, wonach das gereinigte Chlorophyll ausfällt. Man saugt ab, wäscht mit Petroläther nach, trocknet, löst in Äther, filtriert durch geglühtes Natriumsulfat, engt auf ungefähr 25 ml ein und fällt mit 0,8 l leicht flüchtigem Petroläther. Man erhält so reines Chlorophyll in Form mikrokristalliner lanzettförmiger Blättchen.

#### *Über die Abspaltung des Magnesiums*

Zunächst versuchten wir den Nachweis zu erbringen, daß beim Erhitzen von chlorophylltragenden Konserven im neutralen bis schwach sauren  $p_H$ -Bereich tatsächlich Magnesium als Zentralatom durch Wasserstoff ersetzt wird und als Metallion in Lösung geht. Wir kochten also das betreffende Konservierungsgut, z. B. Spinatblätter oder Erbsen, in destilliertem Wasser, dem einige Tropfen verdünnter Salzsäure zugesetzt waren, und saugten dann auf einer Nutsche ab. Im Filtrat konnten wir Magnesium sowohl mit Titangelb als auch mit Oxychinolin und Diphenylcarbazid nachweisen. Der Nachweis von Magnesium in Kochwasser war also eindeutig. Nun enthalten aber grüne Pflanzenteile außer dem im Chlorophyll komplex gebundenen Magnesium meist noch eine größere Menge Magnesium in ionischer Bindung, das natürlich auch z. T. in das Kochwasser übergeht. Daß aber zumindest ein Teil des im Kochwasser nachgewiesenen Magnesiums aus dem Chlorophyll stammen mußte, konnte auf folgende Weise nachgewiesen werden.

Wir extrahierten frische Spinatblätter mit Äther, dampften den Äther weg und konnten in der Asche des Rückstandes Magnesium nachweisen. Kochten wir dagegen die Spinatblätter mit destilliertem Wasser, dem einige Tropfen verdünnter Salzsäure zugesetzt waren, bis zur

<sup>1</sup> Vgl. S. 329, Anm. 1.

deutlichen Phäophytinverfärbung und extrahierten nun die Blätter mit Äther, so war nach dem Wegdampfen des Äthers in der Asche kein Magnesium nachzuweisen. Nun ist schon seit langem bekannt, daß nur an Chlorophyll komplex gebundenes Magnesium mit diesem in den Ätherauszug geht, nicht aber das sonst in den Pflanzen vorhandene, in der Asche nachweisbare, ionogen gebundene Magnesium. Wenn also der Ätherextrakt der frischen Blätter Magnesium enthält, derjenige der gekochten Blätter dagegen nicht, so ergibt sich daraus, daß im ersten Fall das Chlorophyll mit seinem komplex gebundenen Magnesium in den Ätherauszug ging, im zweiten Fall aber nur als Phäophytin, also magnesiumfrei, vom Äther extrahiert wurde. Um diese Tatsachen zu erhärten, nahmen wir von beiden Ätherauszügen ein Absorptionsspektrum im Unicam Sp 500 Spektralphotometer auf. Aufgenommen wurde die selektive Extinktion der Wellenlängen von 320 Millimikron bis 700 Millimikron.

Das Ergebnis zeigen die Kurven der Abb. 1.

Zum Vergleich sind in Abb. 2 die Absorptionskurven von Chlorophyll a und Chlorophyll b nach HAGENBACH wiedergegeben<sup>1</sup>; dabei ist zu beachten, daß in Kurve 1 nur die gemeinsamen Extinktionswerte der natürlichen Chlorophyll a und b-Mischung aufgenommen sind. Außerdem ist in den Kurven von HAGENBACH der log des molaren dekadischen

Extinktionskoeffizienten  $E$  aufgetragen, während bei unseren Kurven (wegen der verschiedenen Konzentrationen) lediglich der Absolutwert der Extinktion ( $E = -\log$  Transparenz) eingezeichnet ist.

Die Kurve 1 der Abb. 1 diene für alle weiteren aufgenommenen Absorptionskurven bezüglich ihrer Maxima und Minima als Vergleichsgrundlage. Vergleicht man nun Kurve 2 mit Kurve 1, so findet man die beiden Chlorophyllmaxima zwar angedeutet, aber nur schwach und etwas verschoben, was vermutlich dem Fehlen der Komplexbindung beim Phäophytin zuzuschreiben ist.

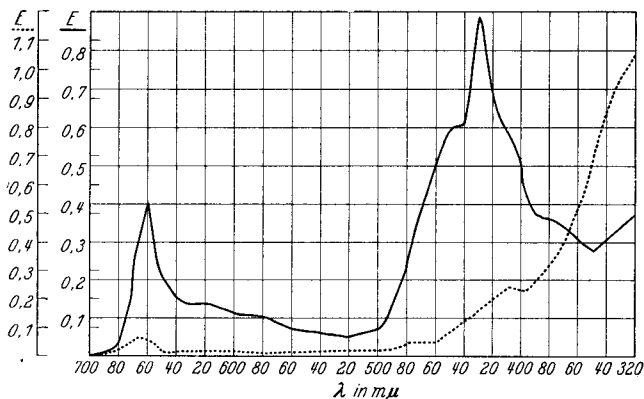


Abb. 1. — Kurve 1, ..... Kurve 2

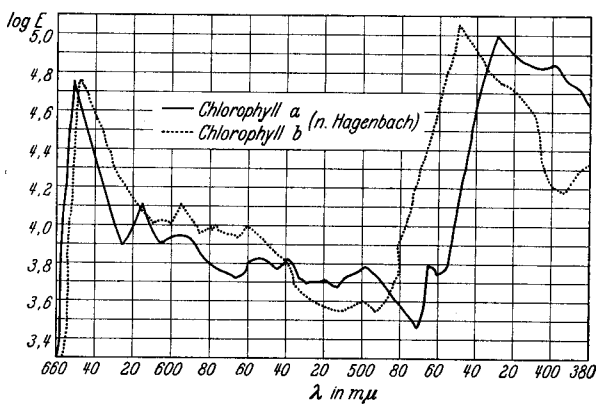


Abb. 2

### *Einfluß von Fe- und Sn-Spuren*

Nachdem also die Tatsache der Phäophytinverfärbung und damit der Abspaltung des Magnesiums als Zentralatom im Chlorophyllmolekül in neutralem und besonders

<sup>1</sup> HAGENBACH, A., F. AUERBACHER u. E. WIEDEMANN: Helvet. phys. Acta 9, 3 (1936).

im schwach sauren Koch- oder Aufgußwasser erwiesen war, versuchten wir ein damit verknüpftes Phänomen zu klären, nämlich die Beeinflussung der Farbänderung durch Metallionen, die z. B. von dem Material der Konservendose in Lösung gehen können.

Es wurden Erbsen in Gläsern sterilisiert. Die erste Gläserserie ohne jede Zutaten, den Gläsern der 2. Serie wurden einige Körnchen granuliertes Zinn, denen der 3. Serie einige Eisenfeilspäne zugegeben. Um jeden anderen Einfluß auszuschalten, wurde als Aufguß destilliertes Wasser verwendet.

Die Erbsen der ersten Serie zeigten die übliche Phäophytinverfärbung, d. h. einen olivgelbgrünen Farbton. Die Erbsen der 2. Serie, mit dem Zusatz an granuliertem Zinn, zeigten dagegen durchweg eine nach Grau tendierende Farbnuance, während die Erbsen der 3. Serie, mit den zugesetzten Eisenfeilspänen, einen deutlichen Stich ins Braune hatten.

Nachdem durch diesen Gläserversuch der Einfluß des Dosenmaterials auf die Chlorophyllverfärbung erwiesen war, machten wir den gleichen Gläserversuch nochmals, verwendeten aber stark verdünnte Zinn- und Eisensalzlösungen (0,01%) als Aufguß. Das Ergebnis war das gleiche wie im vorigen Versuch, nur traten die Farbunterschiede stärker hervor. Die Erbsen mit destilliertem Wasser als Aufguß zeigten wiederum reine Phäophytinverfärbung, während die Erbsen mit der Zinnsalzlösung einen deutlichen Stich ins Graue und die Erbsen in der Eisensalzlösung eine Verfärbung nach Braun zeigten. Versuche mit isoliertem Chlorophyll führten zu dem gleichen Ergebnis.

#### *Einfluß anderer Metallionen*

Zur Klärung der Frage, ob auch andere Metallionen den Verfärbungsvorgang des Chlorophylls beeinflussen können, wurden wieder Erbsen in Gläsern sterilisiert und diesmal als Aufguß außer destilliertem Wasser zum Vergleich auch sehr stark verdünnte Salzlösungen von Kupfer, Zink, Aluminium, Silber und Blei verwendet. Als Ergebnis konnte festgestellt werden: *Silber-* und *Bleitionen* zeigten keinen Einfluß auf die Änderung der Farbe. Die Erbsen zeigten lediglich Phäophytinverfärbung.

Die Erbsen in den Gläsern mit der verdünnten *Aluminiumsalzlösung* zeigten dagegen eine Verfärbung mit einem Stich ins Graue, ganz ähnlich der Verfärbung, die das Zinn hervorgerufen hatte.

Die Erbsen, die mit der 0,01%igen *Kupfersulfatlösung* als Aufguß sterilisiert worden waren, zeigten eine schöne, grüne Farbe; sie waren „gekupfert“. Vom Kupfer ist ja bekannt, daß es anstelle von Magnesium in das Chlorophyllmolekül eintreten kann und dort viel fester gebunden wird als das Magnesium selbst. Kochen mit verdünnten Säuren — was, wie schon mehrfach erwähnt, ein sofortiges Abspalten des Magnesiums aus dem Chlorophyllmolekül zur Folge hat — veränderte die Farbe von Chlorophyllkupfer nicht. Aus diesem Grund werden chlorophyllhaltige Konservierungsgüter, wenn sie in verdünnter Kupfersulfatlösung blanchiert wurden, beim nachfolgenden Sterilisieren nicht mehr verfärbt. Vom ernährungsphysiologischen Standpunkt kann jedoch das „Kupfern“ noch nicht ganz klar beurteilt bzw. bewertet werden. Sollte der Kupfer-Chlorophyllkomplex den menschlichen Verdauungstractus unzersetzt passieren<sup>1</sup>, dann wäre zwar die Toxizität des Kupfers ohne Bedeutung, aber ob nicht doch eine teilweise Abspaltung des Kupfers erfolgt, ist noch nicht endgültig erwiesen<sup>2</sup>. In manchen Staaten ist das „Kupfern“ ganz verboten. In Deutschland sind gegenwärtig 100 mg Kupfersulfat auf 1 kg Doseninhalt gestattet.

<sup>1</sup> UNDERWOOD, E. J.: Trace elements in human and animal nutrition. New York: Academic Press Inc. Publ. 1956.

<sup>2</sup> ZIRM, K. L.: Biochem. Z. **324**, 536 (1953).

Die mit der verdünnten Zinksalzlösung als Aufguß sterilisierten Erbsen zeigten ebenfalls ein grünes Aussehen. Das Zink scheint also gegenüber Chlorophyll ähnliche Eigenschaften zu haben wie sein Nachbar im periodischen System der Elemente. Für die Praxis der Konservenindustrie kommt es wegen seiner physiologischen Bedenklichkeit aber nicht in Frage.

### Über die Bindung der Metallionen

Nachdem wir den Einfluß verschiedener Metallionen auf die Verfärbung des Chlorophylls während der Sterilisation festgestellt hatten, suchten wir zu klären, ob diese Metalle als Zentralatom in das Chlorophyllmolekül eintreten können.

Zunächst wurden Spinatblätter so lange mit verdünnter Salzsäure gekocht, bis sie deutliche Phäophytinverfärbung zeigten, d. h. bis das Magnesium aus dem Chlorophyll abgespalten war. Anschließend wurden sie mehrfach mit heißem Wasser gewaschen, hierauf so lange mit verdünnter Kupfersulfatlösung gekocht, bis die Blätter eine deutliche grüne Färbung zeigten und dann wieder so lange mit Wasser gespült, bis im Waschwasser keine Spuren von Kupferionen mehr nachzuweisen waren. Die Blätter wurden nun mit Äther extrahiert. Ein Teil des Ätherauszuges wurde verdampft, und der Rückstand verascht. In der Asche konnte deutlich Kupfer mit den üblichen analytischen Methoden nachgewiesen werden.

In einem anderen Teil des Ätherauszuges wurde das Absorptionsspektrum im Spektralphotometer aufgenommen.

Abb. 3 zeigt die Absorptionskurve. Sie ist gänzlich verschieden von der Phäophytinkurve 2 der Abb. 1; dagegen zeigt sie weitgehende Ähnlichkeit mit der Kurve 1 der in Abb. 1 dargestellten Absorptionskurve des Chlorophyllätherauszuges. Die beiden typischen Chlorophyllmaxima sind gut ausgebildet; ihre Lage ist ein klein wenig verschoben, was durch den Ersatz von Magnesium durch Kupfer erklärlich ist.

Es wurde nun noch die Möglichkeit erwogen, ob nicht von den Spinatblättern adsorptiv festgehaltenes Kupfersulfat, das von den Waschwässern nicht entfernt worden war, in den Ätherauszug gelangt sei. Aber Kupfersulfat erwies sich im Äther als unlöslich. Schüttete man Kupfersulfat mit Äther, so konnte man in dem Auszug nach Wegdampfen des Äthers und Veraschen kein Kupfer nachweisen. Das Kupfer konnte also nur als Chlorophyllkupfer in den Ätherauszug gelangt sein — worauf ja auch die Absorptionskurve der Abb. 3 hinweist. Damit war die Tatsache erwiesen, daß Kupfer anstelle von Magnesium komplex gebunden in den Chlorophyllrest eintritt.

Die Grau- bzw. Braunverfärbung des Chlorophylls bei Gegenwart von Zinn- und Eisenionen, die sich bei dem früheren Sterilisationsversuch ergab, ließ ebenfalls vermuten, daß diese Ionen in einen Teil der Chlorophyllmoleküle als Zentralatome eingebaut werden und damit die von Phäophytin abweichende Verfärbung bedingen. Deshalb wurden mit diesen beiden Metallen ähnliche Versuche wie bei der Chlorophyllverfärbung durch Kupferionen angestellt.

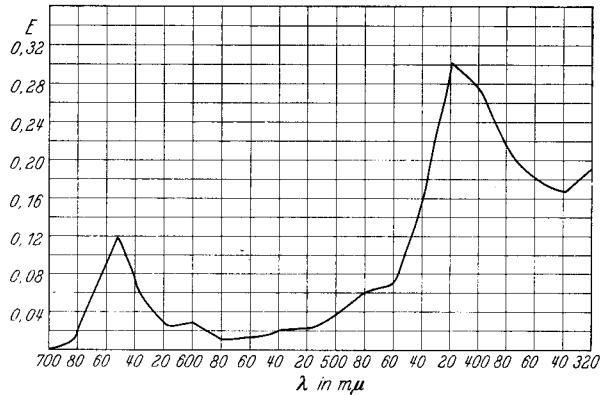


Abb. 3

Zunächst wurde wiederum das Chlorophyll von Spinatblättern und Erbsen durch Kochen mit salzsäurehaltigem Wasser in Phäophytin übergeführt, die Blätter mit heißem Wasser gründlich gewaschen und nun mit verdünnter Zinn(II)-chloridlösung bzw. Eisen(III)-chloridlösung gekocht. Da sowohl Zinn(II)-chlorid als auch Eisen(III)-chlorid im Gegensatz zu Kupfersulfat ätherlöslich sind, mußten die Blätter vor der Extraktion gründlich gereinigt werden. Man verfuhr dabei so, daß die Blätter mehrmals abwechselnd mit kaltem Wasser und warmem, salzsäurehaltigem Wasser kurz gespült wurden. Zuletzt wurde mit kaltem Wasser und Äther

nachgewaschen, anschließend mit Äther extrahiert. Die Extrakte wurden eingedampft, der Rückstand verascht und Eisen und Zinn nach den üblichen Analysemethoden nachgewiesen.

Trotzdem die Analyseergebnisse eindeutig waren, bestand doch keine Sicherheit, ob es sich bei den geringen Mengen an Eisen(III)-oxyd und Zinn(IV)-oxyd im Veraschungsrückstand nicht dennoch um Spuren der an den Blättern haftengebliebenen Eisen- bzw. Zinnsalze handeln konnte.

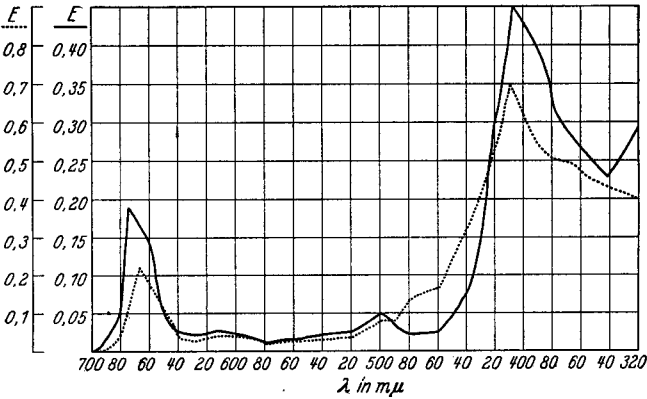


Abb. 4. — Kurve 1, ..... Kurve 2

Eine eindeutige Antwort gaben die Absorptionskurven der beiden Ätherauszüge. Kurve 1 der Abb. 4 zeigt die Absorptionskurve des Ätherauszuges der mit verdünnter Zinnsalzlösung gekochten Spinatblätter, Kurve 2 diejenige der mit verdünnter Eisen-

salzlösung gekochten Blätter. Beide Kurven zeigen nur wenig Unterschied von der Chlorophyllkurve der Abb. 1. Die beiden Maxima sind sehr deutlich ausgeprägt und zeigen entsprechend dem Einbau eines anderen Zentralatoms eine geringe Verschiebung des Maximums im roten Bereich nach längeren Wellen. Wie ein Vergleich mit Abb. 1 zeigt, kann es sich aber keinesfalls um die Absorptionskurven von im Ätherauszug gelöstem Phäophytin handeln.

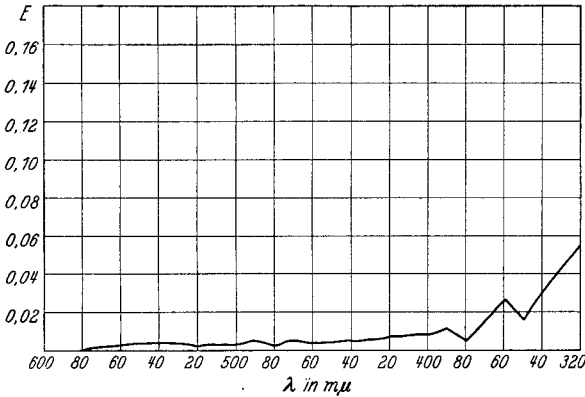


Abb. 5

Zur Kontrolle, ob trotz des intensiven Auswaschens auf den Blättern haftengebliebene Zinn- oder Eisensalze in den Ätherauszug gelangt sein könnten, wurden Eisen(III)-chlorid als auch Zinn(II)-chlorid mit Äther geschüttelt und die Absorptionsspektren dieser beiden Ätherauszüge im Spektralphotometer aufgenommen. Die Ergebnisse zeigen Abb. 5 für Zinn(II)-chlorid und 6 für Eisen(III)-chlorid.

Diese Kurven sind von den beiden Absorptionskurven der Abb. 4 vollkommen verschieden. Damit ist erwiesen, daß das im Ätherauszug nachgewiesene Eisen und Zinn tatsächlich verbunden mit dem Chlorophyllkomplex als Chlorophylleisen und Chlorophyllzinn extrahiert worden ist.

Wir sterilisierten nun Erbsen und Spinat mit schwach alkalischen Aufgußlösungen und konnten keine Beeinträchtigung der Farbe durch zugesetzte Metalle oder deren Salzlösungen feststellen.

In einer weiteren Versuchsreihe untersuchten wir den Einfluß von löslichen Magnesiumsalzen (z. B.  $MgSO_4$ ) und löslichen Calciumsalzen (z. B.  $CaCl_2$ ) auf die Chlorophyllverfärbung beim Sterilisieren. Wir sterilisierten sowohl Spinat als auch Erbsen in Gläsern mit stark verdünnten Lösungen dieser Salze als Aufguß. Als Ergebnis zeigte sich lediglich die Phäophytinverfärbung des Chlorophylls.

Nach den bisherigen Ergebnissen scheinen der leichte Austritt von Magnesium im neutralen und sauren  $p_H$ -Bereich und der Eintritt fremder Metallionen in komplexer Bindung weitgehend gekoppelte Vorgänge zu sein. Erst die Phäophytinverfärbung beim Sterilisieren, d. h. der Austritt vom Magnesium aus dem Chlorophyllmolekül schafft die Voraussetzung, daß die aus dem Dosenmaterial stammenden Metallionen in das Chlorophyllmolekül eintreten können und damit die von der Phäophytinverfärbung verschiedenen Farbnuancen hervorrufen. Aus all diesen Versuchsergebnissen konnte geschlossen werden, daß das Kochen bzw. Sterilisieren von chlorophylltragenden Pflanzenteilen in schwach alkalischer Lösung nicht nur die Phäophytinverfärbung stark vermindert, sondern daß auch anwesende, fremde Metallionen (z. B.  $Al^{+++}$ ,  $Sn^{++}$ ,  $Fe^{++}$ ,  $Fe^{+++}$ ), die nach unseren Versuchsergebnissen einen verschlechternden Einfluß auf den Verfärbungsvorgang haben, keine Wirksamkeit entfalten können. Außerdem wäre dazu noch zu bemerken, daß die genannten Metallionen in diesem schwach alkalischen  $p_H$ -Bereich ohnehin als unlösliche Hydroxyde ausfallen und damit als freie Ionen aus der Lösung verschwinden.

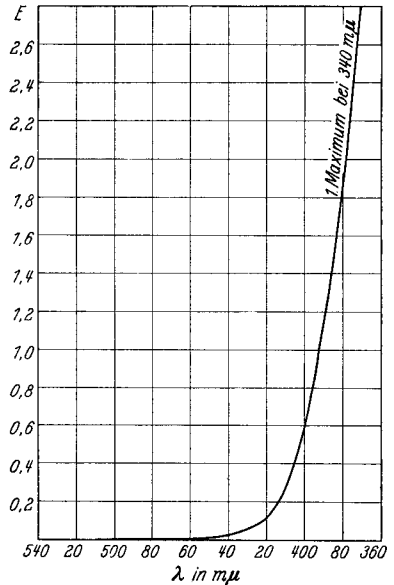


Abb. 6

#### Einfluß von $Ca(OH)_2$ -Zusätzen

Wie nun an einer anderen Stelle eingehender berichtet werden wird, haben wir sehr ausgedehnte Sterilisationsversuche von chlorophyllhaltigen Gemüsesorten im schwach alkalischen Milieu gemacht. Auf diese Versuche soll hier nur so weit eingegangen werden, als sie mit der Farberhaltung des Chlorophylls in Zusammenhang stehen. Die Farberhaltung ist nicht der einzige wichtige Faktor beim Sterilisieren, sondern auch andere Merkmale der Produkte, wie Geschmack, Konsistenz usw. müssen beachtet werden. Bei unseren Versuchen stellte sich heraus, daß nur sehr wenige, alkalisch wirkende Stoffe brauchbar sind. Als in jeder Hinsicht weitaus am besten als Aufguß geeignet erwiesen sich schwache Calciumhydroxydlösungen. Auf

Angabe näherer konserventechnischer Einzelheiten ihrer Anwendung kann hier verzichtet werden, da hierauf an anderer Stelle ausführlich eingegangen wird.

Wir sterilisierten Erbsen und Spinat mit verschiedenen starken Calciumhydroxyd-Lösungen und stellten eine Verbesserung der Farberhaltung fest. Um nun die Frage zu klären, ob das Calciumion ähnlich manchen Schwermetallionen anstelle von Magnesium in das Chlorophyllmolekül eintreten kann und aus diesem Effekt die gute Farberhaltung des Chlorophylls herrührt — ob also, mit anderen Worten ausgedrückt, bei dieser Behandlung evtl. entstandenes Chlorophyllcalcium, ähnlich wie Chlorophyllkupfer, eine grüne Farbe aufweist —, wurden weitere Versuche durch-

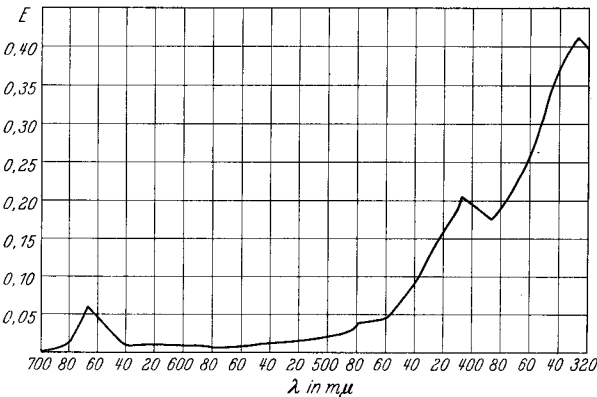


Abb. 7.

Die Lichtabsorption des Ätherauszuges wurde im Spektralphotometer bei verschiedenen Wellenlängen gemessen (Abb. 7).

Die beiden für Chlorophyll typischen Maxima sind nur schwach angedeutet und die Kurve zeigt — vor allem wenn man die beiden verschiedenen Maßstäbe der Extinktion in Betracht zieht — viel Ähnlichkeit mit der Phäophytinabsorptionskurve der Abb. 1. Es ist also im wesentlichen Phäophytin in den Ätherauszug gegangen. Calcium wurde nicht in nachweisbaren Mengen als Zentralatom komplex gebunden. Damit ist auch erwiesen, daß die gute Farberhaltung chlorophyllhaltiger Pflanzenteile beim Sterilisieren mit calciumhydroxydhaltigem Wasser als Aufgublösung vorwiegend der Alkalität zuzuschreiben ist. Diese Alkalität verhindert ein Abspalten des Magnesiums als Zentralatom des Chlorophylls und damit eine Phäophytinverfärbung desselben.

### Zusammenfassung

Es konnte durch Versuche bewiesen werden, daß die Verfärbung chlorophyllhaltiger Füllgüter beim Sterilisieren in den üblichen schwach sauren  $p_H$ -Bereichen durch die Abspaltung von Magnesium als Zentralatom bewirkt wird. Die daraus resultierende Phäophytinverfärbung wird weiterhin durch die Anwesenheit von Metallionen in ihrem Farbton verändert. Der Einfluß von Zink-, Kupfer-, Zinn-, Eisen- und Aluminiumionen wurde untersucht. Durch analytische und spektral-photometrische Methoden wurde nachgewiesen, daß die in Konservendosen immer vorhandenen Zinn- und Eisenionen anstelle von Magnesium als Zentralatom in das Chlorophyll eintreten können. Das so gebildete Chlorophyllzinn zeigt einen grauen,

geführt. Durch Kochen mit schwach salzsaurem Wasser wurde aus dem Chlorophyll sowohl von Spinatblättern als auch von Erbsen das Magnesium herausgelöst und schließlich wurden die gut gewässerten, Phäophytinfarbe zeigenden Spinatblätter oder Erbsen mit verdünnter Calciumhydroxydlösung gekocht. Die Spinatblätter bzw. Erbsen wurden anschließend sehr gründlich gewaschen, um alle Spuren von Calciumhydroxyd zu entfernen und dann mit Äther extrahiert.



das Chlorophylleisen einen braunen Farbton, der von Phäophytin deutlich verschieden ist. Dagegen konnte festgestellt werden, daß geringe Zusätze von Calciumhydroxyd zum Aufgußwasser beim Sterilisieren nicht nur die Phäophytinverfärbung des Chlorophylls wesentlich verringert, sondern auch einen Einfluß anwesender fremder Metallionen auf die Verfärbung verhindert.