

53. Über den Einbau von Trichloräthylen in Inhaltsstoffe des Kaffees bei dessen Decoffeinierung¹⁾

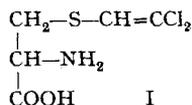
von H. Brandenberger und H. Bader

(4. I. 67)

Werden Nahrungs- oder Futtermittel mit körperfremden chemischen Hilfsstoffen wie Lösungsmittel behandelt, so sollte darauf geachtet werden, dass diese Stoffe nicht nur wieder vollständig aus dem behandelten Gut entfernt werden, sondern auch, dass sich beim Kontakt mit diesem Gut keine toxischen Produkte bilden.

So hat z. B. STOCKMAN 1916 in England [1] erstmals gezeigt, dass die aplastische Anämie der Rinder auf Verfütterung von mit Trichloräthylen (technische Bezeichnung Tri) extrahiertem Sojaschrot zurückgeführt werden muss. Er konnte nämlich sämtliche Krankheitserscheinungen durch Verfütterung von Tri-extrahiertem Sojamehl hervorrufen, nicht aber durch Verfütterung von Trichloräthylen selber. Diese Experimente fanden fast ein Jahrzehnt später auf dem europäischen Kontinent ihre Bestätigung [2]. Dessen ungeachtet nahm man zwischen 1940 und 1950 in den USA zahlreiche Anlagen zur Extraktion von Soja mit Trichloräthylen in Betrieb. Die darauf folgende Erkrankungswelle bei mit Tri-extrahiertem Sojamehl gefütterten Rindern hat dann mehrere amerikanische Forschergruppen veranlasst, näher auf das Problem einzugehen. Es wurde gezeigt [3] [4], dass der toxische Faktor durch Bildung einer Verbindung zwischen chlorhaltigem Lösungsmittel und einem Proteinbestandteil des Sojamehls, wahrscheinlich einer Aminosäure, entsteht, und dass er sich auch bei der Einwirkung von Trichloräthylen auf andere Proteine wie Casein oder Lactalbumin bildet [5]. Nach REHFELD (zitiert nach [4]) erkrankten junge Rinder auch nach Verfütterung von Tri-extrahierten Fleischabfällen an aplastischer Anämie, so dass bei diesem Extraktionsvorgang ebenfalls das Entstehen ähnlicher oder sogar der gleichen toxischen Verbindungen zu erwarten ist.

Auf Grund der Arbeiten von MC KINNEY *et al.* [6] sowie anderer Autoren glaubt man heute, dass es sich beim toxischen Faktor um das S-(Dichlorvinyl)-L-cystein (I) handle. Schon die Aufnahme von 20 mg dieser Verbindung pro 100 kg Lebendgewicht und Tag führt beim Rind am 60. Tag zum Tode. Auch analoge Verbindungen wie das S-(Dichlorvinyl)-glutathion, bei denen das die Dichlorvinyl-Gruppe tragende Cystein in ein Peptid eingebaut ist, bewirken qualitativ die gleichen Krankheitserscheinungen, wenn auch in geringerer Masse. Es ist demnach anzunehmen, dass sich kleine Mengen Trichloräthylen während des Extraktionsvorganges unter Chlorwasserstoff-Abspaltung mit der Sulfhydryl-Gruppe von freiem oder gebundenem Cystein konden-



¹⁾ Vorläufige Mitteilung. Ein ausführlicher Bericht erfolgt in einer Fachzeitschrift der Lebensmittelchemie.

sieren. Der vorgebildete toxische Faktor wird durch die Proteinhydrolyse im Verdauungstrakt wasserlöslich.

Mit Trichloräthylen oder verwandten Chlorkohlenwasserstoffen extrahierte Produkte spielen heute auch in der menschlichen Ernährung noch eine gewisse Rolle. So kann der Kaffee mittels Trichloräthylen decaffeinert werden. Dabei achtet man peinlichst auf vollständige Entfernung des Lösungsmittels aus dem decaffeinerten Gut durch abwechselnde Behandlung mit Wasserdampf und Vakuum. Man kontrolliert die Abwesenheit von Organochlor-Verbindungen mit der BEILSTEIN-Probe an Wasserdampf-Destillaten von Kaffee, erfasst also nur die wasserdampfflüchtigen Komponenten. Nicht flüchtige Reaktionsprodukte von Lösungsmitteln mit irgendwelchen Kaffee-Inhaltsstoffen werden bei diesem Vorgehen weder eliminiert noch nachgewiesen.

Trotzdem die Bildung toxischer Produkte zwischen Trichloräthylen und Protein bei Extraktionsvorgängen erwiesen ist, verwenden auch heute noch die meisten Firmen für die Entkoffeinierung von Kaffee Trichloräthylen [7], in gewissen Ländern auch Tetrachloräthylen. Wir haben deshalb unter Verwendung von [^{14}C]-Trichloräthylen überprüft, ob sich nach einer entsprechend den Bedingungen der Praxis durchgeführten Decoffeinierung die radioaktive Marke des Lösungsmittels im Genussmittel nachweisen lasse.

Arbeitsweise. 10 g grüne «Santos»-Kaffeebohnen wurden durch Quellen mit Wasserdampf auf einen Feuchtigkeitsgehalt von 24% (1. Versuch) bzw. 43% (2. Versuch) gebracht. Dann wurden sie mit 25 ml Trichloräthylen, die 7,9 mg [^{14}C]-Trichloräthylen mit einer Gesamtaktivität von 50 μCi (1. Versuch), bzw. ca. 40 μCi (2. Versuch) enthielten, in einer Glasapparatur in 22 Stufen decaffeinert (Gesamtdauer 11 Std.), wobei Temperatur und Druck soweit wie möglich den Bedingungen der Praxis angepasst wurden und für jede Stufe die gleiche, jedoch frisch redestillierte Lösungsmittelprobe in Anwendung kam. Das decaffeinerte Gut wurde von Lösungsmittelresten durch abwechselnde Einwirkung von Wasserdampf und Vakuum befreit. Auch diese Folge von Operationen, die gut 6 Std. dauerte, erfolgte wiederum möglichst fabrikationsgetreu. Die decaffeinerten Bohnen wurden in einem sich um seine Achse drehenden, geneigten Behälter unter der Einwirkung eines Infra-Strahlers so geröstet, dass wir in 15 Min. einen mittleren Rost erhielten.

Die Radioaktivitäten (s. Tab. 1) wurden mit dem dünnfensterigen Durchflusszählrohr FD-1 und dem Zählgerät Compumatic SC-78 der Firma TRACERLAB an Proben von je 5 Bohnen bestimmt. Die decaffeinerten ungerösteten Proben wurden nur in Form von Bohnen ausgezählt, da sie sich in so kleinen Mengen mit unseren Mitteln nicht pulverisieren liessen. Die gerösteten Proben wurden sowohl ungemahlen wie auch gemahlen, d. h. nach Pulverisieren in einer Reibschale, gemessen. Die jeweils erhaltenen Pulver wurden bei «unendlicher Schichtdicke» ausgezählt. Zuzufolge der mangelhaften Zählgeometrie und den nicht erfassbaren Selbstabsorptionseffekten bei der Auszählung der nicht pulverisierten Proben kommt den betreffenden Aktivitätsangaben natürlich keine quantitative Bedeutung zu; quantitative Überlegungen haben sich auf die Zahlenwerte für pulverisierte Proben zu stützen.

Es zeigt sich eindeutig, dass bei der Decoffeinierung mittels Trichloräthylen ein kleiner Anteil des Lösungsmittels in Kaffee-Inhaltsstoffe eingebaut wird unter Bildung eines Produktes, welches auch bei der Rösttemperatur von 240°C nicht verloren geht. Da 5 Kaffeebohnen ca. einem Viertel der pro Operation eingesetzten Kaffeemenge entsprechen, können wir den je 10 g Kaffee aus beiden Ansätzen eine Aktivität von grössenordnungsmässig 1400 cpm zuordnen. Aus der Bilanz in Tab. 2 ist ersichtlich, dass bei einer Zählausbeute von 10% diese Aktivität von rund 5 mg Trichloräthylen stammen muss. Da unsere Zählausbeute sicherlich zwischen 5 und 20% liegt, kann angenommen werden, dass im Verlaufe einer technischen Decoffeinierung zwischen 0,25 und 1 g Trichloräthylen pro kg Kaffee gebunden wird.

Tabelle 1. *Radioaktivität von je 5 mit ^{14}C -Trichloräthylen behandelten Kaffeebohnen, in cpm*

Versuch	Zählprobe	Grüne Bohnen		Geröstete Bohnen			
		ungemahlen		ungemahlen	gemahlen		
1	1	77	73	89	86	110	109
	2	69		85		111	
	3	—		83		107	
2	1	229	241	302	227	101	105
	2	262		155		109	
	3	232		223		112	
	4	—		—		98	

Vor der Decoffeinierung lag die Radioaktivität der Kaffeebohnen zwischen 2 und 3 cpm. Die relativ hohen Zählraten für ungemahlene Proben im Versuch 2 rühren vom geringeren mittleren Abstand zwischen Probe und Fenster her.

Tabelle 2. *Berechnung der in 10 g Kaffeebohnen bei der Extraktion mit 25 ml (= 37 g) ^{14}C -Trichloräthylen eingebauten Lösungsmittelmenge aus den Radioaktivitätsmessungen*

Beim 1. Versuch wurden 50 μCi , beim 2. 40 μCi eingesetzt, die Zählergebnisse für beide Versuche sind auf 100 cpm für 5 Bohnen bzw. 1400 cpm pro Gesamtansatz abgerundet.

Angenommene Zählausbeute, %	Versuch 1			Versuch 2		
	5	10	20	5	10	20
Danach ber. Gesamtakt., cpm (in Klammern: nCi)	28000 (12,7)	14000 (6,3)	7000 (3,2)	28000 (12,7)	14000 (6,3)	7000 (3,2)
– in Teilen d. einges. Akt.	$\frac{1}{4000}$	$\frac{1}{8000}$	$\frac{1}{16000}$	$\frac{1}{3200}$	$\frac{1}{6300}$	$\frac{1}{12500}$
Eingebautes C_2HCl_3 , mg/10 g	9,2	4,6	2,3	11,6	5,9	2,9

Diese Versuche sagen nichts über ev. Toxizität der aus dem Trichloräthylen entstandenen Verbindung oder Verbindungen aus. Da die Inhaltsstoffe der Kaffeebohnen Sulfhydrylgruppen enthalten, steht die Hypothese, dass sich auch hier wie im Sojamehl S-(Dichlorvinyl)-Derivate bilden, natürlich im Vordergrund. Sollten diese Derivate wasserlöslich sein, so ist eine beträchtliche Toxizität zu befürchten. Die gebundene Trichloräthylenmenge ist nicht unbedeutend, und es erscheint uns angezeigt, das Gefahrenmoment der eventuellen Bildung toxischer Verbindungen bei der technischen Decoffeinierung weiter zu verfolgen.

SUMMARY

After decaffeination of green coffee beans by extraction with ^{14}C -trichloroethylene, the beans were radioactive and did not lose their activity during roasting. On the basis of the radioactivity uptake, it is estimated that during commercial decaffeination 0.25 to 1 g of trichloroethylene is incorporated per kg of beans. The nature of the compound or compounds formed on interaction of trichloroethylene with coffee constituents is still unknown, but attention is directed to the possibility of the formation of highly toxic S-dichlorovinyl derivatives as is the case in the extraction of soya beans with trichloroethylene.

Chemische Abteilung am
Gerichtlich-medizinischen Institut
der Universität Zürich

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] S. STOCKMAN, J. comp. Path. Therap. 29, 95 (1916).
 [2] E. BASS, Deutsche tierärztliche Wschr. 32, 355 (1924); H. EICKMANN, *ibid.* 32, 648 (1924); K. BARTH, Diss. Landw. Hochschule Hohenheim 1956 («Ist mit Trichloräthylen extrahiertes Sojaschrot für die Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere verwendbar?»), wo sich weitere Lit.-Angaben finden.
 [3] L. L. MCKINNEY *et al.*, J. Amer. Oil Chemist's Soc. 34, 461 (1957).
 [4] T. A. SETO *et al.*, J. agr. Food Chemistry 6, 49 (1958).
 [5] J. C. PICKEN & H. E. BIESTER, Abstracts 132nd Meeting, Amer. Chem. Soc., New York, Sept. 1957.
 [6] L. L. MCKINNEY *et al.*, J. Amer. chem. Soc. 79, 3932 (1957); 81, 909 (1959).
 [7] M. SIVETZ, «Coffee Processing Technology», Vol. 2, 207, The Avi Publishing Company, Westport, Conn., 1963.

54. Reaktivität von Koordinationsverbindungen XVII¹⁾Die Autoxydation von Cu^I-Komplexen mit Ammoniak und Imidazol

von A. ZUBERBÜHLER

(9. I. 66)

Über die Autoxydation von Komplexen des einwertigen Kupfers ist bis jetzt relativ wenig bekannt. Detaillierte Studien liegen vor für die Oxydation von Cu^I-Halogeniden in saurem Milieu [2]. Eine neuere Arbeit befasst sich mit dem Einfluss verschiedener Liganden auf die Reaktivität des einwertigen Kupfers mit molekularem Sauerstoff [3].

Wir haben die Autoxydation der Cu^I-Komplexe mit zwei einzähnigen Stickstoffbasen, Imidazol (IM) und NH₃, einerseits durch Messung des Sauerstoffverbrauchs mit einer CLARK-Elektrode [4] und andererseits durch spektrophotometrische Bestimmung der Bildung von Cu^{II} mit Hilfe einer «Stopped Flow»-Technik verfolgt. Es wurde so die Abhängigkeit der Autoxydationsgeschwindigkeit von [O₂], [Cu^I] und [Ligand] und im Falle des Cu(IM)₂⁺-Komplexes auch von pH, Ionenstärke und Temperatur ermittelt.

Reagenzien und Instrumentation. – Ammoniak-Puffer wurde aus *p. a.* NH₄NO₃ (MALLINCKRODT) und festem NaOH (MERCK) hergestellt. Imidazol (EASTMAN) wurde vor Gebrauch zweimal aus Benzol umkristallisiert. – Ohne weitere Reinigung verwendeten wir CH₃CN (EASTMAN, spectrograde), HClO₄ und HCl (MERCK, konz.) und NaNO₃ (BAKER). – Alle Versuche wurden in zweifach destilliertem Wasser durchgeführt.

Bei der Untersuchung des Einflusses des pH wurde das molare Verhältnis des freien Liganden zu seinem Salz variiert, in allen andern Versuchen war es 1:1. Als Cu^I-Salz verwendeten wir Cu(CH₃CN)₄ClO₄ [5], gelöst in CH₃CN. Diese Lösung ist praktisch unbeschränkt haltbar; quantitative ESR.-Spektroskopie zeigte, dass nach vier Monaten weniger als 1/2% des Cu^I zu Cu^{II} oxidiert waren. Durch Mischen von zwei Teilen einer mit Cu(CH₃CN)₄ClO₄ gesättigten Lösung mit einem Teil Acetonitril wurden etwa 0,1M Stammlösungen von Cu^I in Acetonitril hergestellt. Zur genauen Konzentrationsbestimmung wurden 0,5 ml Stammlösung mit 4,5 ml 0,2N NH₃-Puffer versetzt. Nach Oxydation durch Spülen mit Luft wurde die Konzentration des gebildeten Cu(NH₃)₄²⁺-Komplexes spektrophotometrisch (Messen der Extinktion bei 610 nm, Vergleich mit einer Standardkurve) bestimmt.

¹⁾ XVI = [1].