

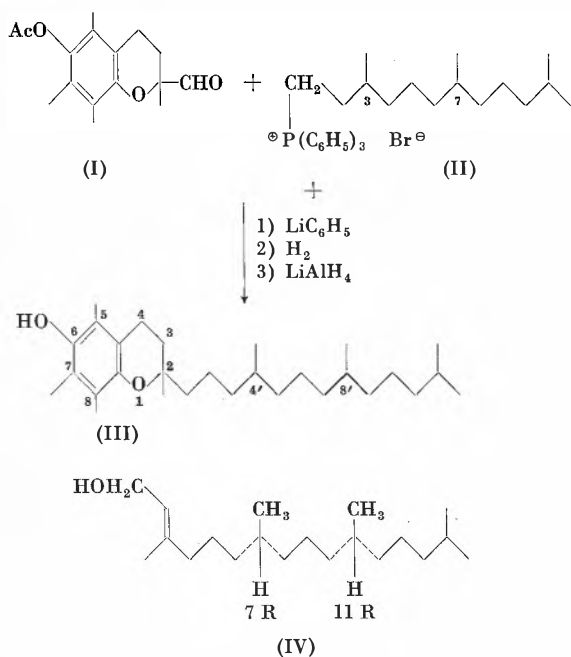
## KURZE MITTEILUNGEN

Bis am 20. des Monats bei der Redaktion eingehende kurze Mitteilungen werden in der Regel am 15. des folgenden Monats veröffentlicht  
Es werden auch Manuskripte aus dem Auslande angenommen

## Über eine neue Vitamin-E-Synthese\*

Der biologisch wirksamste Vitamin-E-Faktor, das *d*- $\alpha$ -Tocopherol (III), ist ein 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl-2-trimethyltridecyl-chroman<sup>1</sup>. Die C-Atome 2, 3 und 4 des Chromanrings, die C-2-Methylgruppe und die aliphatische C-2-Seitenkette verkörpern zusammen das Kohlenstoffgerüst des Phytols (IV). Das Molekül enthält drei verschiedene Asymmetriezentren an C-2, C-4' und C-8'. Acht Stereoisomere (vier Racemate) sind somit theoretisch möglich.

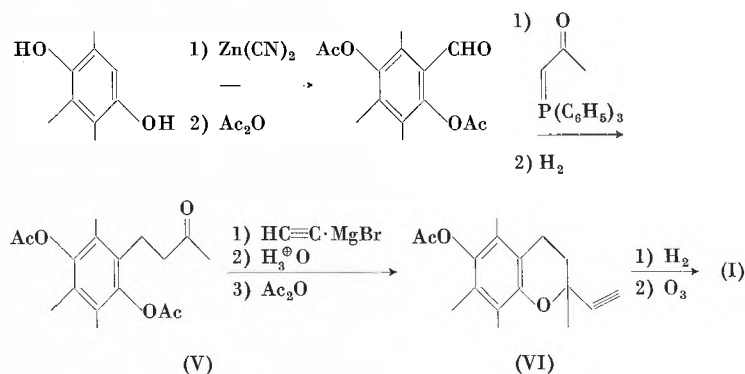
Wie kürzlich gezeigt wurde<sup>2,3</sup>, besitzt natürliches Phytol an beiden asymmetrischen C-Atomen, C-7 und C-11, R-Konfiguration<sup>4</sup>. Über die absolute Konfiguration des in der Natur vorkommenden *d*- $\alpha$ -Tocopherols ist dagegen nichts bekannt<sup>5</sup>.



Die in der Literatur beschriebenen Synthesen des  $\alpha$ -Tocopherols, die von Trimethylhydrochinon und natürlichem Phytol oder Phytolbromid aus natürlichem Phytol oder totalsynthetischem Isophytol ausgehen<sup>6</sup>, liefern stets ein an C-2 racemisches Produkt. Bei Verwendung von natürlichem Phytol entsteht ein Gemisch zweier Epimeren, nämlich 2(+), 4'R, 8'R)- und 2(-), 4'R, 8'R)- $\alpha$ -Tocopherol<sup>7</sup>, mit Isophytol wird totalracemisches  $\alpha$ -Tocopherol gebildet.

Es erschien uns daher von besonderem Interesse, eine Synthese zu entwickeln, die es gestattet, die Konfiguration an C-2 selektiv festzulegen und bestimmte Stereoisomere des  $\alpha$ -Tocopherols, insbesondere die beiden oben erwähnten Epimeren, in reiner Form darzustellen.

Die Synthese wurde zuerst mit racemischen Ausgangsprodukten erprobt und dann auf optisch aktive Reaktionspartner übertragen. So reagiert das Formylchroman (I) mit Hexahydrofarnesyltriphenylphosphoniumbromid (II) unter den Bedingungen der Wittig-Reaktion mit nachfolgender Hydrierung und reduzierender Verseifung zu  $\alpha$ -Tocopherol.



Die Darstellung von (I) gelang aus Trimethylhydrochinon, das in vier Stufen in das aromatische Keton (V)<sup>9</sup> und anschließend in das Äthynylchroman (VI) verwandelt

\* Vorgetragen an der Sommerversammlung der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft in Schuls-Tarasp am 8. September 1962. Auszugsweise mitgeteilt am Vitamin-E-Symposium vom 4. bis 6. Juni 1962 in Zürich, vgl.<sup>6</sup>, und am Internationalen Symposium für Naturstoffe vom 12. bis 15. Juni 1962 in Brüssel. Vorläufige Mitteilung. Die ausführliche Arbeit wird in *Helv. Chim. Acta* veröffentlicht.

<sup>1</sup> Die Numerierung entspricht einem Vorschlag von P. KARRER, H. KOENIG, B. H. RINGIER und H. SALOMON, *Helv. Chim. Acta* 22 (1939) 1139.

<sup>2</sup> J. W. K. BURELL, L. M. JACKMAN und B. C. L. WEEDON, *Proc. Chem. Soc.* 1959, 263.

<sup>3</sup> P. CRABBE, C. DJERASSI, E. J. EISENBRAUN und S. LIU, *Proc. Chem. Soc.* 1959, 264.

<sup>4</sup> Wir verwenden zur Bezeichnung der absoluten Konfiguration das von R. S. CAHN, C. K. INGOLD und V. PRELOG, *Experientia* 12 (1956) 81, vorgeschlagene System.

<sup>5</sup> Über unsere Arbeiten zur Bestimmung der absoluten Konfiguration des natürlichen *d*- $\alpha$ -Tocopherols werden wir später berichten.

<sup>6</sup> Eine zusammenfassende Darstellung der Chemie des Vitamins E findet sich bei O. ISLER, P. SCHUDEL, H. MAYER, J. WÜRSCH und R. RÜEGG, *Vitamins & Hormones* 20 (1962) 389; dort weitere Literatur.

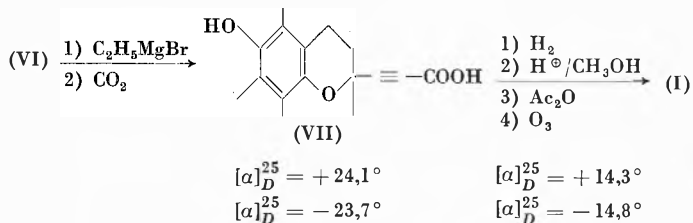
<sup>7</sup> In Ermangelung der Kenntnis der absoluten Konfiguration an C-2 bezeichnen wir die im Epimerengemisch vorliegenden  $\alpha$ -Tocopherole mit 2(+), 4'R, 8'R)- bzw. 2(-), 4'R, 8'R)- $\alpha$ -Tocopherol, wobei 2(+), 4'R, 8'R)- für den positiven bzw. negativen Drehungsbeitrag von C-2 stehen. Für Tocopherole mit racemischer Seitenkette gilt dementsprechend 2(+), 4'RS, 8'RS)- bzw. 2(-), 4'RS, 8'RS)-. Vgl. Tabelle 1 und <sup>6</sup>.

<sup>8</sup> P. SCHUDEL, H. MAYER, R. RÜEGG und O. ISLER, *Chimia* 16 (1962) 368.

<sup>9</sup> Ähnliche Ketone wurden bereits von W. JOHN und H. PINI, *Z. physiol. Chem.* 273 (1942) 225, zur Synthese von totalracemischem  $\alpha$ -Tocopherol verwendet.

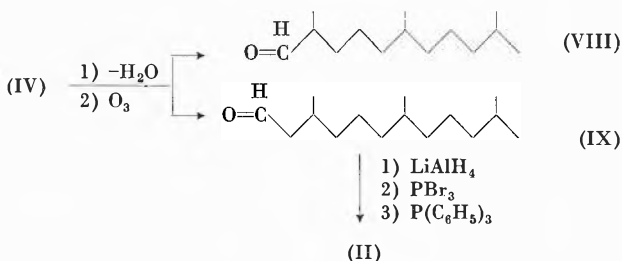
delt wurde. Partialhydrierung und Ozonisierung lieferten schließlich den gewünschten Aldehyd (I).

Es gelang nicht, (I) über diastereomere Derivate in optische Antipoden zu zerlegen. Die aus (VI) durch Grignardierung und Einwirkung von CO<sub>2</sub> erhältliche Carbonsäure (VII) ließ sich dagegen über die diastereomeren Chininsalze glatt in Enantiomere spalten. Partialhydrierung, nachfolgende Veresterung, Acetylierung und



Ozonisierung ergaben schließlich unter Erhalt der Konfiguration an C-2 die beiden enantiomeren Formylchromane (I) in optisch reiner Form.

Die Darstellung von (II) gelang ausgehend von Hexahydrofarnesol in zwei Stufen. (3R,7R)-(II) wurde aus natürlichem Phytol hergestellt: Dehydratisierung und nachfolgende Ozonisierung lieferten entgegen den Angaben von P. CRABBE und Mitarbeitern<sup>3</sup> zwei Aldehyde, den «C<sub>14</sub>-Aldehyd» (VIII) und den «C<sub>15</sub>-Aldehyd» (IX).



(IX) ergab unter Erhalt der Konfiguration an C-3 in drei Stufen (3R,7R)-(II). Die Umsetzung der beiden enantiomeren Formylchromane (I) mit totalracemischem (II) bzw. (3R,7R)-(II) lieferte schließlich die in Tabelle 1 aufgeführten α-Tocopherole, die durch die spezifische Drehung ihrer p-Phenylazobenzoate und Kaliumferricyanid-Oxydationsprodukte<sup>10</sup> charakterisiert wurden.

Tabelle 1

α-Tocopherol	p-Phenylazobenzoat [α] <sub>600</sub> <sup>25</sup> (CHCl <sub>3</sub> )	K <sub>3</sub> Fe(CN) <sub>6</sub> - Oxydationsprodukt [α] <sub>D</sub> <sup>25</sup> (Isooctan)
(2(+),4'R,8'R)	+ 6,99°	+ 24,9° <sup>12</sup>
(2(-),4'R,8'R)	- 7,65°	- 24,7° <sup>12</sup>
(2(+),4'RS,8'RS)	+ 6,96°	+ 25,8° <sup>12</sup>
(2(-),4'RS,8'RS)	- 7,47°	- 23,6° <sup>12</sup>
Natürliches d-α-Tocopherol (+) an C-2) <sup>11</sup>	+ 7,07°	+ 26,0° <sup>13</sup>
(-) an C-2) <sup>11</sup>	- 7,64° <sup>8</sup>	- 25,8° <sup>13, 14</sup>

<sup>10</sup> D. R. NELAN und C. D. ROBESON, *Nature* 193 (1962) 477.

<sup>11</sup> Vgl.<sup>8</sup>, Anmerkung 4.

<sup>12</sup> Spezifische Drehungen des rohen K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>-Oxydationsproduktes.

<sup>13</sup> Vgl.<sup>8</sup>, Anmerkung 6.

<sup>14</sup> Vgl. die soeben erschienene Veröffentlichung von C. D. ROBESON und D. R. NELAN, *J. Amer. Chem. Soc.* 84 (1962) 3196.

H. MAYER, P. SCHUDEL, R. RÜEGG und O. ISLER

Chemische Forschungsabteilung der  
F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, Basel

## Umformungen von α-Tocopherol\*

Im Zusammenhang mit unseren Arbeiten auf dem Vitamin-E-Gebiet interessierten wir uns

- für die Herstellung von α-Tocopherol (I) mit unnatürlicher Konfiguration an C-2, und
- für die Konstitution des von MARTIUS und EILINGSFELD<sup>1</sup> und NELAN und ROBESON<sup>2</sup> beschriebenen Kaliumferricyanid-Oxydationsproduktes von α-Tocopherol, welches kürzlich von DRAPER *et al.*<sup>3</sup> als α-Tocopherol-Metabolit erkannt worden ist.

\* Vorgetragen an der Sommersammlung der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft in Schuls-Tarasp am 8. September 1962. Vorläufige Mitteilung. Die ausführliche Arbeit wird in *Helv. Chim. Acta* veröffentlicht.

<sup>1</sup> C. MARTIUS und H. EILINGSFELD, *Liebigs Ann. Chem.* 607 (1957) 159.

<sup>2</sup> D. R. NELAN und C. D. ROBESON, *Nature* 193 (1962) 477.

<sup>3</sup> H. H. DRAPER, A. S. CSALLANY und S. N. SHAH, *Biochim. Biophys. Acta* 59 (1962) 527.

Die Herstellung von α-Tocopherol mit unnatürlicher Konfiguration an C-2\*\* gelang uns ausgehend von natürlichem d-α-Tocopherol ((+) an C-2)<sup>4</sup>  $[[\alpha]_D^{25} \text{ «K}_3\text{Fe(CN)}_6\text{»}^5 = +26^\circ \text{ (Isooctan)}]$  auf folgendem Wege:

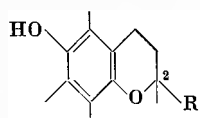
\*\* Auszugsweise mitgeteilt am Vitamin-E-Symposium vom 4. bis 6. Juni 1962 in Zürich (vgl. O. ISLER, P. SCHUDEL, H. MAYER und R. RÜEGG, *Vitamins & Hormones* 20 [1962] 389) und am Internationalen Symposium für Naturstoffe vom 12. bis 15. Juni 1962 in Brüssel.

<sup>4</sup> In Ermangelung der Kenntnis der absoluten Konfiguration von natürlichem α-Tocopherol bezeichnen wir im nachfolgenden die an C-2 epimeren α-Tocopherole mit «(+) an C-2» (positiver Drehungsbeitrag von C-2) und «(-) an C-2» (negativer Drehungsbeitrag von C-2). Vgl. auch H. MAYER, P. SCHUDEL, R. RÜEGG und O. ISLER, *Chimia* 16 (1962) 367.

<sup>5</sup>  $[\alpha]_D^{25} \text{ «K}_3\text{Fe(CN)}_6\text{»}$  steht für die spezifische Drehung des Kaliumferricyanid-Oxydationsproduktes von α-Tocopherol, vgl.<sup>2</sup>

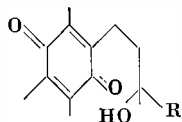
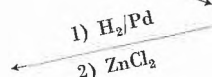
<sup>6</sup> Mittelwert der von uns erhaltenen Rohprodukte der K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>-Oxydation, vgl.<sup>2</sup>

(+) an C-2: 100%



I: R = C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>  
(+) an C-2: 20%  
(-) an C-2: 80%

III: R = CH<sub>3</sub>

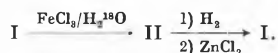


II: R = C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>  
IV: R = CH<sub>3</sub>

Oxydation mit wässriger Ferrichloridlösung führte zu  $\alpha$ -Tocopherylchinon (II) unter Erhalt<sup>7</sup> der Konfiguration an C-2. Nachfolgende katalytische Reduktion und Behandlung des entstandenen  $\alpha$ -Tocopherylhydrochinons mit ZnCl<sub>2</sub> ergab ein  $\alpha$ -Tocopherol-Epimerengemisch, in welchem das  $\alpha$ -Tocopherol ((-) an C-2) zu 80% enthalten war. Aus dem entsprechenden Gemisch der *p*-Phenylazobenzoate konnte durch Umkristallisieren bis zur konstanten Drehung  $\alpha$ -Tocopheryl ((-) an C-2)-*p*-phenylazobenzoat [ $[\alpha]_{600}^{25} = -7,64^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>)] isoliert und durch reduzierende Verseifung mit LiAlH<sub>4</sub> in reines  $\alpha$ -Tocopherol ((-) an C-2) [ $[\alpha]_{D}^{25} = +0,19^\circ$  (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH);  $[\alpha]_{D}^{25}$  «K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>» = -25,8° (Isooctan)] übergeführt werden.

Die Oxydation von  $\alpha$ -Tocopherol ((+) oder (-) an C-2) mit alkalischem Ferricyanid<sup>1-3</sup> liefert ein gelbes, viskoses Öl, dessen spezifische Drehung im Vergleich zu  $\alpha$ -Tocopherol stark erhöht ist und das deshalb zur eindeutigen Differenzierung von  $\alpha$ -Tocopherolen mit verschiedener Konfiguration an C-2 herangezogen werden kann<sup>2</sup>. Die unter gleichen Bedingungen durchgeführte Oxydation des Chromanols (III) gibt in etwa 72-prozentiger Ausbeute ein gelbes, kristallines Produkt (V) (C<sub>28</sub>H<sub>36</sub>O<sub>4</sub>), welches analoge spektrale Daten aufweist wie das K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>-Oxydationsprodukt von  $\alpha$ -Tocopherol<sup>8</sup>. Die nachfolgenden Umsetzungen stehen in völliger Übereinstimmung mit der Struktur V<sup>9</sup>.

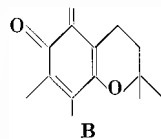
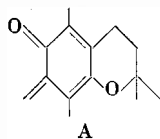
<sup>7</sup> Gestützt durch den Einbau von <sup>18</sup>O in  $\alpha$ -Tocopherol beim Übergang



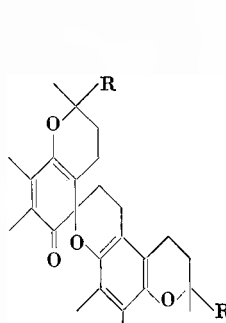
Wir danken Herrn Prof. Dr. V. PRELOG und Herrn Dr. J. SEIBL (ETH, Zürich) für die Aufnahme der Massenspektren.

<sup>8</sup> Hydroxychinon (IV bzw. II) konnte immer in kleineren Mengen bei der K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>-Oxydation von III bzw.  $\alpha$ -Tocopherol nachgewiesen werden.

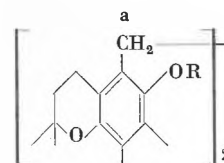
<sup>9</sup> Mechanistische Überlegungen ließen vier mögliche, sich durch Dimerisierung von A oder (und) B ableitende, und mit den Daten



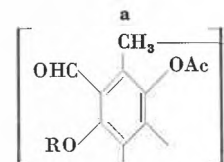
des Oxydationsproduktes im Einklang stehende Strukturen als wahrscheinlich erscheinen.



V: R = CH<sub>3</sub>  
X: R = C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>



VI: R = H  
VII: R = COCH<sub>3</sub> (4Ha: 156 c/s)<sup>10</sup>



VIII: R = H (4Ha: 179 c/s)<sup>10</sup>  
IX: R = COCH<sub>3</sub> (4Ha: 181 c/s)<sup>10</sup>

Katalytische Hydrierung von V gab das kristalline Diphenol VI, welches in das Diacetat VII umgewandelt wurde. Nach der Dehydrierung mit überschüssigem Dichlordicyanbenzochinon gefolgt von Ozonisierung und Behandlung mit wässriger Natriumbisulfidlösung konnte das kristalline Salicylaldehyd-Derivat VIII (und nach Acetylierung IX) isoliert werden.

An verschiedenen Modellsubstanzen wurde beobachtet, daß der Ersatz einer aromatischen Alkylgruppe (oder eines Wasserstoffatoms) durch eine Formylgruppe sich im Kernresonanzspektrum mit einer markanten Änderung der chemischen Verschiebung der Wasserstoffatome an den entsprechenden *ortho*-ständigen Methyl- oder Methylen-Gruppen zu erkennen gibt. Die Banden der *ortho*-ständigen Methyl- oder Methylen-Protonen verschieben sich gegen tieferes Feld («*de-shielding*») in der Größenordnung von 20 c/s, während die Banden der *para*-ständigen Methyl- oder Methylen-Protonen sich entsprechend nur in der Größenordnung von 5 c/s verschieben. Die Änderung der chemischen Verschiebung der 4 Methylenprotonen (4Ha) ( $\delta = 23$  c/s bzw. 25 c/s)<sup>10</sup> gegen tieferes Feld beim Übergang von VII nach VIII bzw. IX ist somit nur mit den Strukturen VI bis IX und damit nur mit V vereinbar und schließt die drei anderen Strukturisomeren<sup>9</sup> aus.

Auf Grund obiger Befunde und analoger Umsetzungen mit dem Hauptprodukt<sup>8</sup> der Kaliumferricyanid-Oxydation von  $\alpha$ -Tocopherol (I) weisen wir diesem die Struktur X zu<sup>11</sup>.

<sup>10</sup> NMR-Spektren wurden in CDCl<sub>3</sub> bei 60 Mc/s aufgenommen. Tetramethylsilan diente als interner Standard.

<sup>11</sup> Soeben erschien die Veröffentlichung von D. R. NELAN und C. D. ROBESON, *J. Amer. Chem. Soc.* 84 (1962) 2963, in welcher die Autoren die Struktur X für das K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>-Oxydationsprodukt von  $\alpha$ -Tocopherol vorschlagen.

P. SCHUDEL, H. MAYER, R. RÜEGG und O. ISLER\*

Chemische Forschungsabteilung der  
F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, Basel

\* Experimentell mitbearbeitet von Herrn J. METZGER.

## Considérations sur le dosage de traces d'éléments dans le diphényle\*<sup>1</sup>

### I. Introduction

Divers projets de réacteurs nucléaires de puissance proposent, comme caloporteur et modérateur, certains hydrocarbures aromatiques nommés plus généralement liquides organiques, dont l'abréviation est représentée par les lettres L.O. Pour tous ces réacteurs, seuls le diphényle et les mélanges de terphényles *ortho*, *méta* et *para* ont été pris en considération. Ces liquides organiques ont comme avantage sur d'autres produits, une bonne stabilité thermique, il est en effet possible de les porter sans décomposition jusqu'à 300 ou 400°C, ainsi qu'une bonne stabilité au rayonnement dans la pile.

Le contrôle de la pureté dite « nucléaire » de ces liquides, aussi bien à l'état neuf qu'en cours d'utilisation se justifie, d'une part pour des raisons évidentes de protection et d'autre part, pour les renseignements précieuses que l'on peut en tirer, notamment en ce qui concerne le mécanisme de la corrosion à la surface des tuyauteries dans lesquelles circule le produit irradié. La concentration des impuretés métalliques tant dans les produits neufs que dans les produits en cours d'utilisation, doit être réduite et maintenue au-dessous de quelques parties par million (p.p.m.). Il n'existe pas actuellement de normes universellement adoptées en ce qui concerne leur teneur en impuretés activables. A titre provisoire, on peut se fixer les spécifications suivantes, Fe: 5 p.p.m., Al: 1 p.p.m., Cu: 1 p.p.m., Cr: 1 p.p.m., Cl: 8 p.p.m., Na: 0,3 p.p.m. et Mn: 0,1 p.p.m.

Comme nous pouvons le constater, le contrôle de cette pureté demande la mise au point de méthodes de dosage de traces d'éléments dans des milieux organiques très stables et difficiles à détruire. C'est à ce problème que nous nous sommes intéressés dans nos laboratoires et plus spécialement au dosage du fer, du chrome, du nickel, du manganèse et du cobalt dans le diphényle non utilisé, ainsi que dans le diphényle irradié et ceci en collaboration avec l'Institut Fédéral de Recherches en matière de Réacteurs à Würenlingen.

Nous ne considérerons ici que la séparation et le dosage du fer, du chrome et du nickel. Ce sont en effet les trois éléments principaux entrant dans la composition de l'acier 18/8 dont était constituée la boucle d'irradiation dans laquelle a circulé le diphényle que nous avons à analyser, afin d'en tirer des renseignements sur le mécanisme de la corrosion.

L'analyse de traces métalliques dans le diphényle peut se diviser en deux parties principales: premièrement, la séparation des éléments du produit de base et deuxièmement, le dosage proprement dit de ces éléments.

### II. Séparation

a) *Par extraction.* Pour séparer du diphényle irradié le Fe, le Cr et le Ni, nous avons tout d'abord appliqué une méthode mise au point par le centre d'étude nucléaire de Grenoble, qui consiste à dissoudre l'échantillon irradié dans le benzène et extraire ensuite certains éléments au moyen de HCl 8-N. Les résultats ont été négatifs, le rendement de l'extraction étant très faible, soit de l'ordre de 20% environ.

Nous avons alors utilisé la méthode suivante, qui consiste à fondre le diphényle et extraire les impuretés métalliques avec un mélange d'acide chlorhydrique et d'acide nitrique à chaud. Le spectre de l'activité gamma du diphényle irradié, enregistré avant la séparation, comparé au spectre de l'activité gamma de la phase acide, obtenue après séparation, nous a permis de nous rendre compte du rendement de l'extraction (Fe: 70%, Ni: 75%, Cr 12%). Malgré plusieurs extractions successives, il ne nous a pas été possible d'augmenter ces rendements. Il semble donc que certains éléments (radioisotopes) restent dans la phase organique sous forme de combinaisons organo-métalliques stables, ce qui serait spécialement le cas pour le chrome. Cette méthode d'extraction n'est donc pas quantitative. Elle permet toutefois, pour certains éléments comme le fer, en tenant compte du rendement, d'obtenir des résultats satisfaisants. Pour d'autres par contre, et notamment dans le cas du chrome, les résultats du dosage n'ont pas été concluants et manquent de précision.

b) *Par minéralisation.* Nous avons alors cherché à mettre au point une méthode de séparation plus générale, en nous basant sur la destruction, par voie humide, du composé organique. Nous avons tout d'abord essayé de minéraliser le diphényle uniquement au moyen d'acide nitrique à chaud. L'opération est longue et demande beaucoup d'acide, ce qui a pour effet de contaminer démesurément la solution par les impuretés contenues dans ce réactif. Aussi, a-t-il fallu réduire la quantité d'acide au minimum. Nous y sommes parvenus en traitant d'abord le diphényle avec de l'acide sulfurique concentré. Le produit ainsi obtenu est facilement détruit par l'acide nitrique concentré à chaud. De cette manière, 1 g de diphényle peut être minéralisé en utilisant 1 ml d'acide sulfurique et 5 ml d'acide nitrique, en présence de 1 ml de NaCl 5% comme support minéral.

### III. Contaminations

Malgré la faible quantité d'acide nécessaire, les contaminations se sont révélées être encore trop grandes par rapport à la proportion des éléments à doser, et ceci spécialement en ce qui concerne le fer. Avec 5 ml d'acide nitrique nous introduisons en effet 14 µg de fer, pour

\* Eingegangen am 21. September 1962.

<sup>1</sup> Vortrag vor der Sommerversammlung der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft am 8. September 1962 in Schuls-Tarasp.

7  $\mu\text{g}$  environ contenus dans 1 g de diphényle. Il est donc impossible de doser avec précision cet élément dans ces conditions. Nous avons alors purifié cet acide par une distillation fractionnée, ce qui nous a permis d'abaisser sa teneur en fer d'un facteur de 4. 5 ml d'acide nitrique ne renferment donc plus que 3,4  $\mu\text{g}$  soit une quantité deux fois plus petite que celle à déterminer, ce qui permet d'effectuer un dosage plus précis.

Malgré quelques distillations répétées, dans l'intention d'augmenter encore la pureté de l'acide, il ne nous a pas été possible de réduire la quantité de fer, qui reste à peu près constante après la première distillation.

Les contaminations dues à d'autres éléments ainsi qu'à d'autres réactifs sont négligeables.

#### IV. Les pertes

Les pertes au cours de la minéralisation ont été contrôlées à l'aide de radioisotopes. Dans le cas du dosage du fer, nous avons ajouté au diphényle avant la minéralisation, du Fe-59 d'une période de 45 jours. La mesure de l'activité au moyen du spectre gamma pour le diphényle irradié et par un comptage ordinaire pour le diphényle neuf, avant et après destruction, nous indique ces pertes. Pour le dosage du chrome, nous avons utilisé le Cr-51 d'une période de 28 jours. En ce qui concerne le nickel, n'ayant pas de radioisotope à disposition, nous avons décidé de marquer au départ le diphényle avec du Co-60 d'une période de 1924 jours, le cobalt ayant des comportements semblables au nickel. En travaillant soigneusement, les pertes sont très faibles, soit de l'ordre de 1 à 5%. Elles peuvent être négligées.

#### V. Le dosage

Le dosage proprement dit des éléments est effectué directement sur le résidu de la minéralisation par des méthodes spectrophotométriques, sans séparation préalable. Ces méthodes ont retenu notre attention par leur sensibilité, leur spécificité et leur simplicité. Elles sont classiques et bien décrites dans la littérature. Nous ne les considérerons pas en détail ici, mais ne ferons que mentionner quelques caractéristiques essentielles (v. tableau 1).

#### VI. Résultats

La durée des opérations pour une telle analyse est d'environ 4 heures, soit 3 heures pour la minéralisation

Tableau 1: Sensibilités des méthodes spectrophotométriques choisies

Eléments	Réactifs	Sensibilité $\mu\text{g/ml}$ ( $\epsilon$ )	Interférences
Fe <sup>2+</sup>	$\alpha\alpha'$ dipyridine	8000 (522 m $\mu$ )	} Aucune dans nos conditions de dosage
Cr <sup>6+</sup>	diphényl-carbazide	30000 (540 m $\mu$ )	
Ni <sup>3+</sup>	diméthyl-glioxime	15000 (465 m $\mu$ )	

\* La légère interférence due au Fe<sup>3+</sup> est compensée si l'on introduit dans l'essai à blanc, une quantité de fer bien déterminée correspondant à celle se trouvant dans l'échantillon à analyser et que nous avons déterminé précédemment. La sensibilité est donnée par le coefficient d'extinction molaire.

de 1 g d'échantillon et 1 heure pour le dosage des trois éléments. Il est bien entendu que le temps total nécessaire pour effectuer une série de dix analyses reste à peu près le même que celui utilisé pour une seule.

Dans un diphényle ayant circulé 17 jours dans une boucle d'irradiation soumise à un flux de neutrons thermiques intermittent de  $6 \cdot 10^{11}$  n/cm<sup>2</sup>/sec, nous avons trouvé 7,1 p.p.m. ( $\pm 1$ ) de Fe, 1,6 p.p.m. ( $\pm 0,3$ ) de Cr et 0,8 p.p.m. ( $\pm 0,1$ ) de Ni. Le même diphényle neuf, c'est-à-dire avant irradiation, contient 6 p.p.m. ( $\pm 2$ ) de Fe, 0,2 p.p.m. ( $\pm 0,1$ ) de Cr, le Ni n'ayant pas encore été déterminé. Ces résultats nous permettent donc de dire que 1,1 p.p.m. de Fe et 1,4 p.p.m. de Cr proviennent de l'acier 18/8 dont était constitué les conduites de circulation.

#### VII. Conclusion

L'analyse de traces d'éléments dans le diphényle est d'autant plus aisée que la prise initiale est plus faible. Celle-ci est toutefois limitée par la sensibilité des méthodes choisies. Une analyse des éléments par activation nous permettrait certainement de réduire encore cette prise et de ce fait, diminuer la concentration des ions étrangers, la quantité de réactif et la durée des opérations ainsi que les risques de pertes et de contaminations, c'est le problème que nous étudions actuellement.

W. HAERDI, D. MONNIER et ED. MARTIN

Laboratoires de Chimie Minérale,  
de Chimie Analytique et de Microchimie  
de l'Université, Ecole de Chimie de Genève

## Fraktionierung von Farb- und Geschmacksstoffen des Röstkaffees mittels Sephadex G 25\*

Farbe und Geschmack sind Qualitätsmerkmale des Kaffees und daher von unmittelbar praktischem Interesse.

Das Spektrum von Kaffee-Aufgüssen ist schon früher aufgenommen und einzelne Züge sind der Chlorogen-

\* Eingegangen am 20. Oktober 1962.

säure, dem Coffein und dem Furfurol zugeschrieben worden<sup>1,2</sup>. Selbstverständlich kann die Farbe nur kleinstenteils diesen Substanzen zugeordnet werden. Hauptverantwortlich für die Farbe sind wohl beim Rösten

<sup>1</sup> A. C. LITTLE und G. MACKINNEY, *Food Technol.* 10 (1956) 503.

<sup>2</sup> R. G. MOORES et al., *Anal. Chem.* 20 (1948) 620.

entstandene braune Stoffe («Melanoidine») unbekannter Natur. Es sollte versucht werden, zumindest über das Molekulargewicht dieser Melanoidine näheren Aufschluß zu gewinnen.

Am Geschmack<sup>3</sup> des Kaffees sind Coffein, Trigonellin, Chlorogensäure, sowie verschiedene einfachere organische Säuren mitbeteiligt. Die stofflichen Träger der charakteristischen Geschmacksnote echten Kaffees sind jedoch unbekannt; sie sind kaum identisch mit den Bestandteilen des kompliziert zusammengesetzten Kaffeegeruchs, obschon auch sie tatsächlich nicht mit der Zunge, sondern mit dem Geruchssinn wahrgenommen werden<sup>4</sup>.

Es gelang, konzentrierte Kaffee-Aufgüsse an Säulen von Sephadex G 25 in Fraktionen aufzutrennen, die sich nach Farbe bzw. Spektrum, Geschmack und chemischer Zusammensetzung deutlich unterschieden: Abb. 1. Das hier für Columbia-Kaffee wiedergegebene Bild bestätigte sich prinzipiell auch bei Afrika- und Santos-Kaffee ähnlichen Röstgrades; bei Columbia allerdings war die Auftrennung der zweiten Hauptfraktion besonders deutlich.

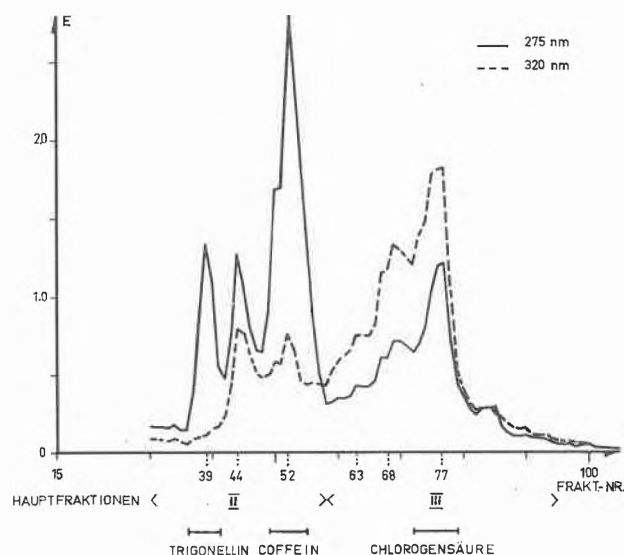


Abb. 1. Auftrennung von Röstkaffee-Farbstoffen an Sephadex-G 25-Säule bei Elution mit Wasser

Wir unterscheiden drei Hauptfraktionen: I, II und III; die erste, rasch laufende, höhermolekulare Fraktion (Molekulargewicht gemäß dem Sephadex-Typus vermutlich über 4000) ist in Abb. 1 weggelassen. Das Mengenverhältnis der drei Hauptfraktionen hängt von der Röstung ab.

Die Spitzenfraktionen (Nr. 39, 44, 52, 63, 68, 77) zeigen grundsätzlich drei verschiedene Spektrentypen:

<sup>3</sup> «Geschmack» verwenden wir hier durchwegs im Sinne des Laien, nicht des Physiologen.

<sup>4</sup> H. STREULI, unveröffentlichte Arbeiten (1961).

- Typus Melanoidin (Absorption gegen den längerwelligen Bereich monoton sinkend, teilweise mit Schulter bei etwa 280 nm): Nr. 44,
- Typus Trigonellin/Coffein (Maxima bei 265/275 nm): Nr. 39 und 52,
- Typus Chlorogensäure (Schulter bzw. Maximum um 290 bzw. 320 nm): Nr. 63, 68, 77.

Papierchromatographisch<sup>5</sup> aufgefundene chemische Bestandteile entsprachen den Spektren der betreffenden Fraktionen.

Die Retentionszeiten der aufgefundenen Substanzen (Trigonellin, Coffein, Chlorogensäure) an der Sephadex-Säule entsprechen wider Erwarten nicht den Molekulargewichten; ein gleichermaßen aufgetrenntes Gemisch der reinen Stoffe zeitigte dasselbe Resultat.

Zur Geschmacksprüfung wurde an kürzern, dicken Säulen aufgetrennt, um nicht allzu verdünnte Proben zu erhalten. Trotz der geringeren Trennschärfe fand sich der charakteristische Geschmack kalten Kaffees scharf in einer kleinen Fraktion wieder, die in der ersten Hälfte der zweiten Hauptfraktion liegt. Ein Vergleich der Spektren dieser Fraktion mit denjenigen der unmittelbar vorangehenden und folgenden Fraktionen ließ keinerlei Unterschiede erkennen. Ein bestimmtes Spektrum ist also vorläufig kein Indikator für den typischen Kaffeegeschmack. – Andere Fraktionen zeigten grünfruchtigen, karamelartigen, brenzlichen, säuerlichen u. a. Geschmack.

Die höchstmolekularen bzw. kolloidalen Bestandteile (erste Hauptfraktion) tragen zwar maßgeblich zur Farbe (Spektren vom Melanoidin-Typus), aber überhaupt nicht zum Geschmack des Kaffees bei.

Nach vorläufigen Versuchen an karamelisierter Saccharose (Saccharose – ein wichtiger Bestandteil des Rohkaffees) eignet sich Sephadex auch hier zur Fraktionierung. Allgemein dürfte Sephadex zur Untersuchung von Melanoidinen erfolgversprechend sein.

Eine ausführliche Darstellung soll andernorts erfolgen.

Den Herren F. SCHAUB, G. HASSLER und R. GASSER danke ich für geschickte Mitarbeit.

### Experimentelles

Abb. 1: Säule 203 × 0,8 cm; aufgetragen 1 ml frischer Columbia-Aufguß, 9,1% TS; Elution mit Wasser, Fraktionen von 1 ml aufgefangen. Angabe der optischen Dichte *E* in Verdünnung 1:20.

Geschmacksprüfung: Säule 80 × 5 cm; aufgetragen 75 ml Robusta-Aufguß, 11,4% TS; Fraktionen von 20 ml.

<sup>5</sup> L. KOGAN *et al.*, *Anal. Chem.* 25 (1953) 1118.

H. STREULI

Thomi & Franck AG, Basel