

ANGEWANDTE CHEMIE

HERAUSGEGEBEN VON DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER
64. Jahrgang · Nr. 22 · Seite 605–632 · 21. November 1952
FORTSETZUNG DER ZEITSCHRIFT »DIE CHEMIE«

Eine Anwendung der natürlichen ^{14}C -Aktivität in der Lebensmittelchemie

Von Dr. V. FALTINGS, Hamburg

Aus dem Institut für physikalische Chemie der Universität Hamburg

Unterschiede in der ^{14}C -Aktivität organischer Substanzen aus fossilem oder biologischem Kohlenstoff ermöglichen deren Unterscheidung. Als Beispiel wurden Alkohol- und Essig-Proben untersucht. Es gelang ferner, die Änderung der Mischungsverhältnisse der Isotopen bei der alkoholischen Gärung nachzuweisen.

Die Unterscheidung natürlicher, im Pflanzen- oder Tierreich erzeugter Stoffe von solchen, die synthetisch gewonnen sind, ist oft sehr schwierig, und es ist meist recht kompliziert, den Ursprung mit Sicherheit nachzuweisen. Sofern die synthetischen Stoffe aus fossilem Kohlenstoff aufgebaut werden, bietet sich in der Messung der ^{14}C -Aktivität eine sichere Unterscheidungsmöglichkeit. Frischer biologischer Kohlenstoff ist bekanntlich infolge des bei der Assimilation aufgenommenen $^{14}\text{CO}_2$ schwach radioaktiv; in der Minute ereignen sich pro Gramm C 15,6 β -Zerfälle^{1, 2)}. Die Halbwertszeit des ^{14}C beträgt 5600 Jahre, so daß in allen frischen organischen Stoffen praktisch die gleiche Aktivität nachzuweisen ist. In fossilem Kohlenstoff ist infolge seines Alters aber praktisch aller ^{14}C zerfallen. Die Messung der verbliebenen ^{14}C -Aktivität gestattet bekanntlich auch eine Altersbestimmung von organischen Substanzen.

Die Aktivitätsmessung ist wegen der geringen Intensität und der Weichheit der β -Strahlung (154 keV Maximalenergie) schwierig. Libby und seine Mitarbeiter^{1, 2)} entwickelten eine Methode, bei der der Kohlenstoff elementar auf der Wand des Zählrohrs angeordnet wurde. Wegen der geringen erzielbaren spezifischen Aktivität des Kohlenstoffs, bezogen auf die in das Zählrohr eingebrachte gesamte Kohlenstoff-Menge, ist eine sehr sorgfältige Unterdrückung des durch Höhenstrahlung und γ -Aktivität der Umgebung verursachten Leereffekts nötig, der immer der Aktivität der zu untersuchenden Probe überlagert ist.

Um eine größere spezifische Aktivität des Kohlenstoffs in der Meßanordnung zu erreichen und dadurch nach Mög-

lichkeit die Messung zu vereinfachen, wurde der Kohlenstoff in Form gasförmiger Kohlenwasserstoffe in das Zählrohr gebracht³⁾. Wegen der hohen Gasdrucke, die in der Größenordnung einiger Atmosphären lagen, mußte dann allerdings im Proportionalbereich gearbeitet werden, was die Verwendung von leistungsfähigen Verstärkern für die schwachen Impulse notwendig machte (Bild 1).

Natürliche und synthetische Alkohol- und Essigproben

Das Verfahren wurde zunächst nur zur Analyse von Mischungen aus natürlichen und synthetischen Essig- und Alkohol-Proben angewendet. Prinzipiell ist es aber bei allen organischen Stoffen brauchbar. Es war das einfachste, aus den genannten Substanzen Äthan herzustellen. Man erhält es bekanntlich aus Essigsäure leicht durch Elektrolyse einer konzentrierten Kaliumacetat-Lösung; aus Alkohol gewinnt man durch Wasserabspaltung Äthylen, das zum Äthan hydriert wird. Bei der Untersuchung anderer Substanzen wird es wohl meistens zweckmäßig sein, über CO_2 durch Hydrieren an geeigneten Katalysatoren zum CH_4 zu gelangen, das auch sehr gut im Zählrohr verwendet werden kann. Weiter ist es aber auch möglich, durch Verkohlen der Substanz und Umsetzen des Kohlenstoffes mit metallischem Lithium über $\text{Li}_2\text{C}_2-\text{C}_2\text{H}_2$ durch Hydrieren zum C_2H_6 zu gelangen, das wegen der zwei C-Atome in der Molekel größere C-Mengen bei gleichem Druck in das Zählrohr zu bringen und dadurch größere Meßgenauigkeit zu erreichen gestattet.

Zunächst wurde nur mit einem einzelnen Zählrohr gearbeitet. Dabei traten aber Schwierigkeiten wegen der Konstanz des Leereffekts auf. Eingestraute elektrische Störungen ließen sich bei der 10000-fachen Verstärkung in der Apparatur nicht völlig fernhalten. Deswegen wurde später ein zweites gleiches Zählrohr gleichzeitig benutzt, das eine Vergleichsprüfung mit bekannter Aktivität enthielt. Da sich die Störungen auf beide Zählrohre gleich auswirkten, kompensierte sie sich in der Differenz, die der zu messenden Aktivität proportional war.

Immerhin war aber auch in der einfachen Apparatur nicht nur eine sichere Unterscheidung fossiler und frischer Substanzen möglich, sondern auch mit einiger Genauigkeit eine Messung des Mischungsverhältnisses.

¹⁾ E. C. Anderson u. W. F. Libby, Physic. Rev. 81, 64 [1951].

²⁾ W. F. Libby, J. R. Arnold u. E. C. Anderson, Rev. Sci. Instr. 22, 225 [1951].

³⁾ V. Faltungs, Naturwiss. 39, 378 [1952].

Die folgende Tabelle zeigt einige Meßergebnisse an Testproben, die aus synthetischer und Gärungssessigsäure gemischt wurden.

Probe	% Gärungs- essigsäure	Gemessene Imp./min	¹⁴ C-Aktivität Imp./min	Aus der ¹⁴ C-Aktivität berech- neter Gehalt an Gärungs- essigsäure, %
1	10	73,5 ± 0,3	0,0	Eichung
2	100	84,0 ± 0,3	10,5 ± 0,6	Eichung
3	50	78,5 ± 0,4	5,0 ± 0,7	48 ± 10
4	70	81,5 ± 0,4	8,0 ± 0,7	76 ± 11
5	30	70,0 ± 0,4	4,5 ± 0,7	43 ± 9
6	15	74,5 ± 0,4	1,0 ± 0,7	10 ± 8
7	40	77,0 ± 0,4	3,5 ± 0,7	33 ± 9
8	75	82,0 ± 0,4	8,5 ± 0,7	81 ± 12

Tabelle 1
Aktivitätsmessungen an Gemischen von synthetischer und Gärungssessigsäure

Die Streuung der Werte dürfte im ersten Linie durch die Inkonstanz des Leereffekts verursacht sein, die sich besonders bei längeren Meßzeiten bemerkbar machte; deshalb war es nicht möglich, durch noch längeres Zählen die Genauigkeit zu steigern. Diese Steigerung der Meßgenauigkeit gelang aber durch gleichzeitige Messung einer Vergleichsprobe im zweiten Zählrohr, wie die nachstehende Tabelle zeigt, die die Meßergebnisse an einer Reihe von Alkoholtestproben wiedergibt. Zugleich wurde mehr Gas in die Zählrohre gegeben, so daß auch durch die größere Kohlenstoff-Menge die Meßgenauigkeit erhöht wurde (Tabelle 2).

Probe	% synth. Alkohol	Gemessene Aktivität Imp./min	Aus Aktivität bestimmte Zusammen- setzung % synth. Alkohol
1	100	0	Eichung
2	0	24,5 ± 0,3	Eichung
3	85	20,4 ± 0,3	83,2 ± 2,5
4	15	3,9 ± 0,4	15,9 ± 2
5	35	8,9 ± 0,4	36,4 ± 2
6	50	11,9 ± 0,4	48,5 ± 2

Tabelle 2
Vergleich zwischen tatsächlicher und gemessener Zusammensetzung einiger Alkoholproben

Wenn das Verfahren auch für die Untersuchung von Lebensmitteln im allgemeinen zur Zeit noch sehr kompliziert erscheint, so dürfte es doch als grundsätzliche Möglichkeit der Unterscheidung von großem Wert sein, da es auf die Eigenschaften des Kohlenstoffes selber anspricht und nicht auf irgendwelche Beimengungen, wie bei allen anderen Unterscheidungsverfahren.

Änderung des Isotopenmischungsverhältnisses bei der Gärung

Mit Hilfe dieses Meßverfahrens ließ sich auch zeigen, daß der Separationsfaktor

$$S = \frac{(^{14}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}}{(^{14}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{CO}_2}}$$

für die Trennung von ¹²C und ¹⁴C durch die Fermentreaktion bei der alkoholischen Gärung zwischen 0,97 und

1,07 liegen muß. Bei der Assimilation der Kohlensäure durch die Pflanze tritt bekanntlich eine ziemlich starke Abreicherung des ¹⁴C in der Pflanzensubstanz gegenüber dem CO₂ ein, die etwa einem Separationsfaktor 0,9 entspricht.

Aus Zucker wurde durch Gärung Alkohol gewonnen und das entstandene CO₂ aufgefangen. Aus dem Alkohol wurde C₂H₄ hergestellt und zum C₂H₆ hydriert. Die Gärungskohlensäure wurde mit heißem metallischem Magnesium zu elementarem Kohlenstoff reduziert, aus dem dann mit metallischem Li über Lithiumcarbid Acetylen und durch Hydrieren C₂H₆ erhalten wurde. Die Aktivität der beiden Proben wurde dann in der Zählapparatur unmittelbar verglichen. Zwischen der Probe aus dem Alkohol und der aus der CO₂ hätte sich ein eventueller Unterschied in der Aktivität besonders gut zeigen müssen, da bei einer Zunahme der Aktivität der einen Probe eine entsprechende Abnahme bei der anderen Probe zu erwarten gewesen wäre. Durch Vertauschen der Proben in den Zählrohren ließen sich die Unterschiede im Leerlauf, die durch die Verschiedenheit der Bleipanzerung hervorgerufen wurden, eliminieren. Die Zählergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

	Zählrohr 1	Zählrohr 2
1. Meßreihe:	C ₂ H ₆ aus C ₂ H ₅ OH: 112,1 ± 0,5 Imp./min	C ₂ H ₆ aus CO ₂ : 114,8 ± 0,5 Imp./min
2. Meßreihe:	C ₂ H ₆ aus CO ₂ : 108,8 ± 0,4 Imp./min	C ₂ H ₆ aus C ₂ H ₅ OH: 112,3 ± 0,4 Imp./min

Die Differenz im Leerlauf in den beiden Zählreihen ist durch äußere Störungen zu erklären. Der Leerwert selber lag für das Zählrohr 1 bei etwa 93 Imp./min, für das Zählrohr 2 etwa 2 Imp./min höher, so daß die Aktivität der Proben etwa 18 Imp./min war. Im ersten Zählversuch ergab sich für die Differenz zwischen beiden Proben (1)–(2) = -2,7 ± 1,0 Imp./min, im zweiten Versuch nach der Vertauschung der Proben (1)–(2) = -3,5 ± 0,8 Imp./min. Daraus ergibt sich für die doppelte Differenz in der Aktivität zwischen der Probe aus dem Alkohol und dem CO₂ + 0,8 ± 1,8 Imp./min. Unter Berücksichtigung der absoluten Aktivität von 18 Imp./min errechnet sich daraus der Separationsfaktor S für die Anreicherung des ¹⁴C im C₂H₅OH zu

$$S = 1 + \frac{0,4 \pm 0,9}{18},$$

so daß S zwischen 0,97 und 1,07 liegen müßte, also wahrscheinlich eine schwache Anreicherung des ¹⁴C im Alkohol stattfindet. Eine genauere Messung ist aber erst nach einer Verfeinerung der Apparatur möglich.

Zwischen Holzessig und Gärungssessig ließ sich keine merkliche Differenz in der Aktivität nachweisen. Ebenso zeigte es sich beim Vergleich von biologischer Essigsäure und Alkohol, daß bei der bakteriellen Essiggärung keine mit der derzeitigen Meßgenauigkeit nachweisbare Verschiebung des Isotopenverhältnisses gegenüber dem Alkohol eintritt. Auch hier wäre es sicher sehr interessant, durch genauere Messungen die wahrscheinlich vorhandene schwache Verschiebung der Isotopenverhältnisse nachzuweisen.

Eingeg. am 25. September 1952 [A 466]