

2 Dünnschichtchromatographie

2.1 Alginat

Der (in manchen Ländern verbotene) Zusatz von Alginaten verbessert die Schaumstabilität. Die Alginat (Natriumalginat, Propylenglycolalginat) sind Salze der Alginsäure, die aus β -1,4-verknüpften D-Mannuronsäure- und L-Guluronsäure-Molekülen besteht. Mit zunehmender Alginatkonzentration steigen sowohl die Viskosität als auch die Schaumhaltbarkeit (Schaumzahl, Sigmawert) an; bei einer Einsatzmenge von z. B. 40 mg/l Alginat ist mit einer Verbesserung der Schaumhaltbarkeit um etwa 8 Σ -Einheiten zu rechnen.

Prinzip

Alginat wird nach Dialyse als Bariumsalz gefällt und die nach saurer Hydrolyse gebildete Mannuronsäure als Lacton dünnenschichtchromatographisch nachgewiesen (1).

Geräte

pH-Meter

Zentrifuge (4000 UpM)

Zentrifugengläser, 15 ml, 1 l

Messkolben, 10 ml

Wasserbad, kochend

Pipetten, 20 μ l, 1 ml, 2 ml

Septumfläschchen

Dialysierschlauch, Ausschlussgrenze 12000-14000

DC-Plastikfolien, Kieselgel 60 (Merck Nr. 5748)

Trockenschrank, 105 °C

Glühröhrchen

Reagenzien

Wasser demin.

Natronlauge, 1 M und 10 M

Salzsäure, 2 M und 8 M

Schwefelsäure, 50 %

Methanol

Acetonitril

Bariumchlorid, $\text{BaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$

Mannuronsäure-Lacton (Sigma Nr. 5007)

Mannuronsäure-Lacton-Lösung: 2 mg Mannuronsäure-Lacton in wenig H_2O lösen, 2 Tropfen 2 M Salzsäure zugeben und mit H_2O auf 10 ml auffüllen

Orcin, p. a.

Fließmittel: Acetonitril und H_2O im Volumenverhältnis 85+15 mischen

Sprühreagenz: 0,2 g Orcin in 50 ml 50%iger Schwefelsäure lösen, 50 ml Methanol zugeben und mischen

Ausführung

- 500 ml Bier von Kohlendioxid befreien und mit 10 M Natronlauge auf pH 12 einstellen
- Probe portionieren (ca. 80 ml) und in 100-ml-Bechergläser abfüllen

- Gläser in kochendes Wasserbad stellen, um die Alginat-Ester zu spalten, und zwar, wenn 92 °C erreicht sind, noch genau 5 min darin belassen
- Proben rasch auf 20 °C abkühlen (möglichst in Eiswasser), Probelösungen wieder zusammengießen
- mit 8 M Salzsäure auf pH 4,0 bringen
- in Dialysierschlauch einfüllen und über Nacht im fließenden Leitungswasser sowie 4 h bei 0 °C in H₂O dialysieren (dabei zweimal H₂O wechseln)
- Dialysat in Becherglas gießen und dann Bariumchlorid (2 g pro 100 ml) einrühren, während 15 min mittels Magnetrührer rühren. Das Ganze über Nacht bei Raumtemperatur stehen lassen
- Niederschlag in 1 l-Zentrifugenbecher 15 min bei 4000 UpM zentrifugieren
- Überstand vorsichtig abgießen und Niederschlag mit einer Pasteurpipette in ein 10-ml-Zentrifugenglas transferieren
- nochmals 5 min bei 2500 UpM zentrifugieren
- Niederschlag mit 2 ml 2 M Salzsäure in ein Septumfläschchen transferieren
- während 2,5 h bei 90 °C im Trockenschrank hydrolysieren
- Probelösung abkühlen und in einem Glühröhrchen, das in einem 10-ml-Zentrifugenglas mit Watte steckt, zentrifugieren
- 20 µl des Überstandes auf kieselgelbeschichtete Dünnschichtplatte auftragen und mittels Fön sorgfältig trocknen
- ebenso 20 µl Manuronsäure-Lacton-Lösung auftragen
- Platte mit dem Fließmittel entwickeln
- Platte herausnehmen und mit dem Sprühreagenz behandeln und dann während 10-15 min im Trockenschrank auf 105 °C erwärmen
- Chromatogramm möglichst unmittelbar nach dem Erwärmen auswerten oder zur Dokumentation (z. B. mittels Polaroid-Kamera) fotografieren

Auswertung

Da es beim Nachweis von Alginat in Bieren vor allem darauf ankommt, bereits geringe Zusätze zu erkennen, genügt im allgemeinen eine halbquantitative Bestimmung. Dies geschieht am besten durch Untersuchung der betreffenden Probe ohne und mit definierten Gehalten an Alginat.

Nachweisgrenze

Ca. 1 mg/l

Bemerkungen

Eine quantitative Bestimmung nach Eliminierung störender Bestandteile durch enzymatische Behandlung mit Amyloglucosidase, Pectinase und Papain sowie Dialyse, Ausfällung als Calciumalginat mit Kalkwasser, Lösen des Niederschlages mit Natriumhexametaphosphat und Farbreaktion mit Orcin ist möglich (2).

Literatur

1. F. Schur, P. Anderegg und H. Pfenninger, BR 92, 25 (1981)
2. M. Bernard, R. Scriban, M. Nicolaidis und G. Normand, BWiss 34, 251 (1981)