

ASIC

**Association Scientifique
Internationale du Café**

4ème

**COLLOQUE INTERNATIONAL
SUR LA CHIMIE DES CAFÉS**

4th

**INTERNATIONAL COLLOQUIUM
ON THE CHEMISTRY OF COFFEE**

4.

**INTERNATIONALES KOLLOQUIUM
ÜBER KAFFEESCHEMIE**

4de

**INTERNATIONAAL COLLOQUIUM
OVER KOFFIECHEMIE**

Amsterdam 2-6 juin 1969

DR

**QUATRIÈME COLLOQUE INTERNATIONAL
SUR LA CHIMIE DES CAFÉS VERTS,
TORRÉFIÉS ET LEURS DÉRIVÉS**

Amsterdam, 2-6 juin 1969

Association Scientifique Internationale du Café
(A. S. I. C.)
34, rue des Renaudes, Paris 17^e

CONSEIL D'ADMINISTRATION DE L'A. S. I. C.

(Exercice 1967-1969)

Président :	G. VERHAAR	(Pays-Bas)
Vice-Présidents :	E. ILLY	(Italie)
	E. E. LOCKHART	(Etats-Unis)
	H. THALER	(Allemagne)
Secrétaire administratif :	R. COSTE	(France)
Secrétaire scientifique :	P. NAVELLIER	(France)
Trésorier :	D. REYMOND	(Suisse)
Conseillers :	L. A. FOBÉ	(Brésil)
	H. S. LEVENSON	(Etats-Unis)
	A. E. WOOTTON	(Afrique orientale)

QUATRIÈME COLLOQUE INTERNATIONAL SUR LA CHIMIE DES CAFÉS VERTS, TORRÉFIÉS ET LEURS DÉRIVÉS

Amsterdam, 2-6 juin 1969

Liste des participants	7
Séance inaugurale :	
— Opening remarks, G. VERHAAR	11
— Welcoming address, C. NAGTEGAAL	13
— Opening speech, A. L. GOEDHART	15
Communications :	
Documentation-Information	
— Harmonization of food legislation in the European Economic Community, G. F. WIL- MINK	17
— Documentation and information, D. J. MALTHA, T. EERNSTMAN	23
— Etat de la normalisation internationale du café, G. CASTAN	30
— Considérations sur le café décaféiné, V. JANS	34
Méthodes d'analyse et composition chimique	
— Recent advances in the chemistry of coffee : a review, R. F. SMITH	41
— « Over-fermented » beans and « stinkers » as defectives of Arabica coffee, J. M. NORTH- MORE	47
— The role of moisture in coffee during storage, N. GOPALAKRISHNA RAO, A. BALA- CHANDRAN, C. P. NATARAJAN	55
— Structure partielle de la cafamarine, J. DE ROSTOLAN, J. E. POISSON	59
— Unbehandelter und behandelter Kaffee unter dem Mikroskop, E. BÜRGIN	63
— Les glucides du café vert : leur solubilisation à l'eau et leur évaluation quantitative, G. PICTET, A. MOREAU	75

— Carbonsäure-hydroxy-Tryptamide in rohen und gerösteten Kaffeebohnen, J. WURZIGER, U. HARMS	85
— Triage components in coffee, C. P. NATARAJAN, A. BALACHANDRAN, S. SHIVASHANKAR	92
— New and rapid method for the analysis of caffeine in coffee products, T. L. FAZZINA ...	97
— Fractionation and analysis of aroma precursors in green coffee, H. RUSSWURM	103
— The effect of process variables on aroma retention in drying coffee extract, H. A. C. THIJSEN	108
— Quantitative comparison of GL chromatograms over longer periods of time, S. VAN STRATEN, T. DE NIE	118
— Headspace analysis of less volatile constituents of coffee, J. PYPKER, H. BROUWER ...	122
— Some simple analytical methods in coffee processing, E. J. C. PAARDEKOOPEER, J. DRIESEN, J. CORNELISSEN	131
— Report of the working party on coffee odour research methods, C. WEURMAN, S. VAN STRATEN	140
— The relationship of volatile compounds in roasted coffee beans to their precursor, C. MERRITT, Jr., D. H. ROBERTSON, D. J. McADOO	144
— Remarques sur le dosage de la caféine, P. NAVELLIER, A. BRUNIN, G. DALGER	149
— Wasserbestimmung in Kaffee-Extrakt. Resultate eines Ringversuchs mit verschiedenen Methoden, U. HAEVECKER	160

Chimie dans ses relations avec la technologie

— The fluidized bed drying of coffee, C. ROLZ, J. F. MENCHÚ, E. ARIMANY	166
— Veränderungen hochpolymerer Kohlenhydrate beim Rösten von Arabica-Kaffee, H. THALER, W. ARNETH	174
— Etude de relations éventuelles gustatives ou chimiques en fonction de la préparation du café Robusta au stade primaire, F. CHASSEVENT, J.-C. VINCENT, D. HAHN, S. POU-GNEAUD, R. WILBAUX	179
— The effect of roasting technology on the surface activity of coffee, L. TELEGDY KOVÁTS, M. KELEMEN-SZILAS	186
— Sieve analysis of finely ground coffee, Th. VAN VEEN, J. H. VREESWIJK	192

Caractères organoleptiques et effets physiologiques

— Physiological actions of coffee with special attention to lipid metabolism, S. HEYDEN, W. M. O'FALLON	201
— Zur Frage der Antithiaminaktivität des Kaffees, R. BÖNICKE, G. CZOK	209
— Der Kohlenhydrat-Fettstoffwechsel unter dem Einfluss von Kaffee und Coffein, K. MÜLLER-WIELAND	215
— Der Einfluss der Schilddrüsenfunktion auf einige Wirkungen von Kaffee, Coffein und Theophyllin, O. STRUBELT, J. STEFFEN, H. STÜTZ	222

— Verhalten der Metabolite des Fett- und Kohlenhydratstoffwechsels nach Verabreichung verschiedener Kaffeesorten, H. HAMMERL, C. KRÄNZL, G. NEBOSIS, O. PICHLER, M. STUDLAR	226
— La boisson de café dans le traitement de la pellagre humaine, J. ADRIAN, J. PENA, J. MORAIS DE CARVALHO, A. MIRANDA, J. XABREGAS, A. CORTE DOS SANTOS ..	232
— Répercussions nutritionnelles de l'introduction d'une infusion de café vert ou grillé dans la ration du rat, J. ADRIAN, R. FRANGNE, J. XABREGAS, A. CORTE DOS SANTOS ..	243
— Contribution à l'étude des effets pharmacologiques de l'acide chlorogénique, G. VALETTE, H. MORIN	248
— Qualitätsbestimmung von Kaffee und Kaffee-Erzeugnissen mittels Verbraucherumfragen, U. HAEVECKER	254
Rapport de synthèse	260
Closing remarks, G. VERHAAR	264



*Un groupe de participants à l'entrée de l'Institut royal des régions tropicales
où se tenaient les séances du Colloque*

LISTE DES PARTICIPANTS

Allemagne

- CZOK, G. — Pharmakologisches Institut der Universität, Martinistrasse 52, 2 Hamburg 20
EICHLER, O. — Gutleuthofweg 18, 69 Heidelberg-Schlierbach
GARLOFF, H. — General Foods Corp., 22 Elmshorn
GRIGAT, H. — Vienenburger Weg 2, 2 Hamburg 61
HAEVECKER, U. — Kurfuerstenstrasse 106, 1 Berlin 30
HUWALD, K. — J. J. Darboven, Wendenstrasse 35/43, 2 Hamburg 1
KADEN, O. F. — Forschungs-Labor für Kaffee und Kakao, Hallerstrasse 54, Hamburg 13
KOVACS, A. S. — GEG, Besenbinderhof 43-52, Hamburg
KRÖPLIEN, U. — Coca Cola GmbH, Kaninenbergstrasse 66, 43 Essen
KUHN, M. — Unifranck Lebensmittelwerke GmbH, Franckstrasse 8, Ludwigsburg
KURZ, G. — Coffein Compagnie GmbH, Postfach 8130, 28 Bremen
KINKEL, H. J. — 6231 Schwabach Am Schollengasten
LANG, K. — Direktor des Physiologisch-Chemischen Instituts der Universität, Mainz
MOHR, E. — Deutsche Extrakt Kaffee Gesellschaft, Hamburg
MÜLLER-LIMMROTH, H. W. — Institut für Arbeitsphysiologie der Technischen Hochschule, Barbarastrasse, 8 München
MÜLLER-WIELAND, K. — Medizinische Universitäts-Klinik Hamburg-Eppendorf, Martinistrasse 52, 2 Hamburg 20
NOWAK — HAG Aktiengesellschaft, Hagstrasse, 28 Bremen
PRCHAL, K. — Coca Cola GmbH, Kaninenbergstrasse 66, 43 Essen
SCHULTHEISS, W. — Arbeitsgemeinschaft der Hersteller von löslichem Kaffee, Eschenheimer Landstrasse 5-7, 6 Frankfurt/Main
STRUBELT, O. — Institut für Pharmakologie, Med. Akademie, Lübeck
SYLLA, K. — HAG Aktiengesellschaft, Hagstrasse, 28 Bremen
THALER, H. — Institut für Lebensmittelchemie der Universität, Fasanenstrasse 3, 33 Braunschweig
ULRICH, R. — Hauptgesundheitsamt, Bremen
VITZTHUM, O. — HAG Aktiengesellschaft, Hagstrasse, 28 Bremen
WALTER, W. — Elbchausee 478, 2000 Hamburg
WURZIGER, W. — Hygienisches Institut, Gorch-Fock-Wall 15/17, 2 Hamburg 36

Autriche

- HAMMERL, H. — Wilhelminenspital der Stadt Wien, Montleartstrasse 37, A-1160 Wien
STUDLAR, M. — Wilhelminenspital der Stadt Wien, Montleartstrasse 37, A-1160 Wien

Belgique

- OLSON, R. J. — General Foods Corp., 36, av. des Arts, Bruxelles
TILKENS, R. J. F. — C. E. R. I. A., 1, Emile Gryzonlaan, Bruxelles 7

Canada

- FAIRBAIRN, N. J. — General Foods Ltd., 2200 Yonge street, Toronto

Danemark

- BARKHUUS, A. — Irma A/S, c/o Odensegade 11, 2100 Copenhagen Ø

Etats-Unis

- AMORIM, H. V. — Escola Superior de Agricultura « Luiz de Queiroz », University of São Paulo, Piracicaba, S. P. Brésil
- FAZZINA, T. L. — General Foods Corp., 250 North Street, White Plains, N. Y.
- HEYDEN, S. — Duke University, Medical Center, Durham, N. C.
- LEVENSON, H. S. — General Foods Corp., 250 North Street, White Plains, N. Y.
- LOCKHART, E. E. — The Coca Cola Company, P. O. Drawer 1734, Atlanta, Georgia 30301
- NUTTING, L. — Hills Bros. Coffee Inc., 2 Harrison Street, San Francisco, California 94119
- STROBEL, R. G. K. — The Procter & Gamble Co. P. O. Box 39175, Cincinnati

Finlande

- AIRO, E. — Finnish Co-operative Wholesale Society (SOK), Fleminginkatu, 36, Helsinki 51
- SALO, T. — Finnish Co-operative Wholesale Society (SOK), Fleminginkatu, 36, Helsinki 51.

France

- ACCURTI, G. B. — Cie Française de Décaféination, 37, bd de Levallois, 92-Neuilly-sur-Seine
- BOULON, R. — SOPAD, 17, quai du Pt. P.-Doumer, 92-Courbevoie
- CALMETTES, G. — Ets G. Calmettes, 87, rue Baudin, 92-Levallois-Perret
- CARDOZO, J. C. — General Foods France-Legal, 12, rue de la Victoire, 93-Blanc-Mesnil
- CASTAN, G. — Association Française de Normalisation, Tour Europe, 92-Courbevoie.
- CHASSEVENT, Mlle F. — I. F. C. C., Laboratoire de Recherches, 45 bis av. de la Belle-Gabrielle, 94-Nogent-sur-Marne
- CORVÉE, J. C. — Chambre syndicale des Torréfacteurs de France, 42, rue Pasquier, 75-Paris 8^e
- COSTE, R. — Institut Français du Café et du Cacao (I. F. C. C.), 34, rue des Renaudes, 75-Paris 17^e
- JANS, V. P. — Association Internationale d'Expertise Chimique (A. I. D. E. C.), 1, rue Gabriel-Vicaire, 75-Paris 3^e
- MICHEL, A. — Benard et Honnorat 06-Grasse
- NAVILLIER, P. E. — Laboratoire Central, 39 bis, rue de Dantzig, 75-Paris 15^e
- POISSON, J. — Faculté de Pharmacie, 4, av. de l'Observatoire, 75-Paris 6^e
- ROSTOLAN, M. de, — I. F. C. C., Laboratoire de Recherches, 45 bis av. de la Belle-Gabrielle, 94-Nogent-sur-Marne
- SIMON, J. — Ets. Damoy, 17, rue Jean-Jacques-Rousseau, 94-Ivry
- VINCENT, J.-C. — I. F. C. C., B. P. 2067 Yaoundé (Cameroun)
- WILBAUX, R. † — I. F. C. C., Laboratoire de Recherches, 45 bis av. de la Belle-Gabrielle, 94-Nogent-sur-Marne

Grande-Bretagne

- CLARKE, R. J. — General Foods Ltd. Maxwell House, Banbury, Oxon
- DAWSON, J. A. — Tropical Products Institute, 56 Gray's Inn Road, London W. C. 1.
- DUX, E. F. W. — J. Lyons and Co Ltd, Tea Division, Cadby Hall, London W. 14
- FARRER, P. M. — Sol Café Ltd., Oldfield Lane, Greenford, Middlesex
- NOLTES, A. W. — Coca Cola Europe, 195 Knightsbridge, London S. W. 7
- SMITH, R. F. — Society of Chemical Industry, 14 Belgrave Square, London S. W. 1. Corresp. address : 58-Elmwood Road, Chiswick, London W. 4.

Hongrie

- TELEGDY-KOVÁTS, L. — Institute of Food Chemistry of the University of Technical Sciences, Műegyetem rkp 3, Budapest
- SZILAS, Mrs. M. — Institute of Food Chemistry of the University of Technical Sciences, Műegyetem rkp 3, Budapest

Italie

- BARBERA, C. E. — Illycaffé, S. p. A., Via Flavia 110, Trieste. Adresse actuelle ; P. O. Box 255, 98100 Messina.
- LUCCI, A. — Soc. Crippa & Berger S. p. A., Corso Italia 22, Milano
- PANDAKOVIC, B. — Soc. Crippa & Berger S. p. A., Corso Italia 22, Milano

Kenya

- NORTHMORE, J. M. — Coffee Research Foundation, P. O. Box 4, Ruiru. Present address : Northmore Laboratories Simmonds Row, Canterbury, Kent, England.
- WOOTTON, A. E. — East African Industrial Research. Organisation, P. O. Box 30650, Nairobi ; c/o 196 Burneside Road, Kendal, Westmorland, England

Norvège

- ARNESTAD, K. G. — Central Institute for Industrial Research, c/o Sognvannsvm 2, Vindern, Oslo 3
- RUSSWURM, H. — Central Institute for Industrial Research, Forskningsvm 1, Blindern-Oslo 3

Pays-Bas

- BECHERER, F. A. — Theodorus Niemeyer N. V., Paterswoldseweg, 43, Groningen
- BROUWER, H. — International Research Co. N. V., Keulsekade, 143, Utrecht
- DIEMAIR, O. D. — International Research Co. N. V., Keulsekade, 143, Utrecht
- DOUQUÉ, H. A. — Coffex N. V., Joan Muyskenweg, 19, Amsterdam
- EEGERDINGK, W. — Albert Heyn N. V., Zaandam
- HEUS, J. G. de — International Research Co. N. V., Keulsekade, 143, Utrecht
- HOLTKAMP, H. C. — Vrije Universiteit, De Laraissestraat, 174, Amsterdam
- JANS, H. F., — Kon. Instituut voor de Tropen, Mauritskade, 63, Amsterdam
- JANSEN, H. — Coffex N. V., Prinsengracht, 379, Amsterdam
- KREUGER, P. — De Erven de Wed. Van Nelle N. V., Van Nelleweg, 1, Rotterdam
- MALTHA, D. J. — PUDOC, Postbus 4, Wageningen
- PAARDEKOOPER, E. J. C. — P. de Gruyter & Zn. N. V., Den Bosch
- PELT, J. G. Van — Unilever Research Lab., Olivier van Noortlaan, 120, Vlaardingen
- PYPKER, J. — International Research Co. N. V., Keulsekade, 143, Utrecht
- SCHAAFSMA, Y. — International Research Co. N. V., Slagtedijk, 16, Joure
- SCHAAKE, J. — Douqué's Koffie Import en Export N. V., Prinsengracht, 379, Amsterdam
- STRATEN, S. Van — C. J. V. O.-T. N. O., Utrechtseweg, 48, Zeist
- THIJSSSEN, H. A. C. — T. H. Eindhoven, Eindhoven
- THIO, G. L. — Kon. Instituut voor de Tropen, Mauritskade, 63, Amsterdam
- VEEN, Th. Van — International Research Co. N. V., Keulsekade, 143, Utrecht
- VERHAAR, G. — Kon. Instituut voor de Tropen, Mauritskade, 63, Amsterdam
- WEURMAN, C. — Central Institute for Nutrition and Food Research, Utrechtseweg, 48, Zeist
- WILMINK, G. — Raadsadviseur Ministerie van Landbouw en Visserij, 1^e v. d. Boschstraat, 4, Den Haag

Pologne

- SLOWINSKI, W. — Zentrallaboratorium für die Lebensmittelkonzentrate-Industrie, Starolecka Strasse, 42, Poznan

Portugal

- ADRIAN, J. — C. N. R. S., 92-Bellevue (France)
- CORTE DOS SANTOS, A. — I. C. A., C. P. 342, Luanda (Angola)
- XABREGAS, J. — D. A. F., C. P. 238 Luanda (Angola)

Suisse

- BÜRGIN, E. — Coffex AG., CH-8201 Schaffhausen
- DIETRICH, P. — Firmenich & Cie, 39 case Jonction, 1211 Genève
- ERRASS — Thomi & Franck A. G., Horburgstrasse 105, 4000 Basel
- HUCK, H. — NCR, Zurich
- KOUTAISSOFF, A. — Afico S. A., Vevey
- PICTET, G. A. — Laboratoire Industriel des Produits Nestlé, Orbe
- REYMOND, D. — Afico S. A., 1814 La Tour de Peilz
- STOLL, R. — Coffex A. G., CH-8201 Schaffhausen
- WINTER, M. — Firmenich & Cie, 39 Case Jonction, 1211 Genève

Tchécoslovaquie

BEJR, V. — Balírný obchodu Karlovo nám 18, Praha

Yougoslavie

PETRICEK, P. — Institut za hmeljarstvo, Zalec

Conférence des chefs d'Etat de l'Afrique Equatoriale

HELLY, J. — Service Commun de Contrôle du Conditionnement, B. P. 663, Pointe-Noire, Congo-Brazzaville.

Note de la rédaction

Nous tenons à remercier le Dr KADEN et le Dr CZOK qui ont bien voulu se charger de transcrire les discussions en langue allemande qui avaient eu lieu dans le cadre de leur commission respective.

Nous remercions également Mlle CHASSEVENT pour le concours qu'elle nous a apporté dans la préparation de ce recueil.

J. C.

OPENING REMARKS



G. VERHAAR
President of ASIC

Ladies and Gentlemen,

On behalf of the « Association Scientifique Internationale du Café » and on behalf of the Committee who have undertaken the task of organizing this colloquium I bid you a most cordial welcome to Amsterdam.

However much thought and work we may have put into making the arrangements for your reception and for your activities, those arrangements can never quite reach the ideal of being at all times in all ways what all of you might desire. Nevertheless, we hope you will find them adequate and will make full and profitable use of them.

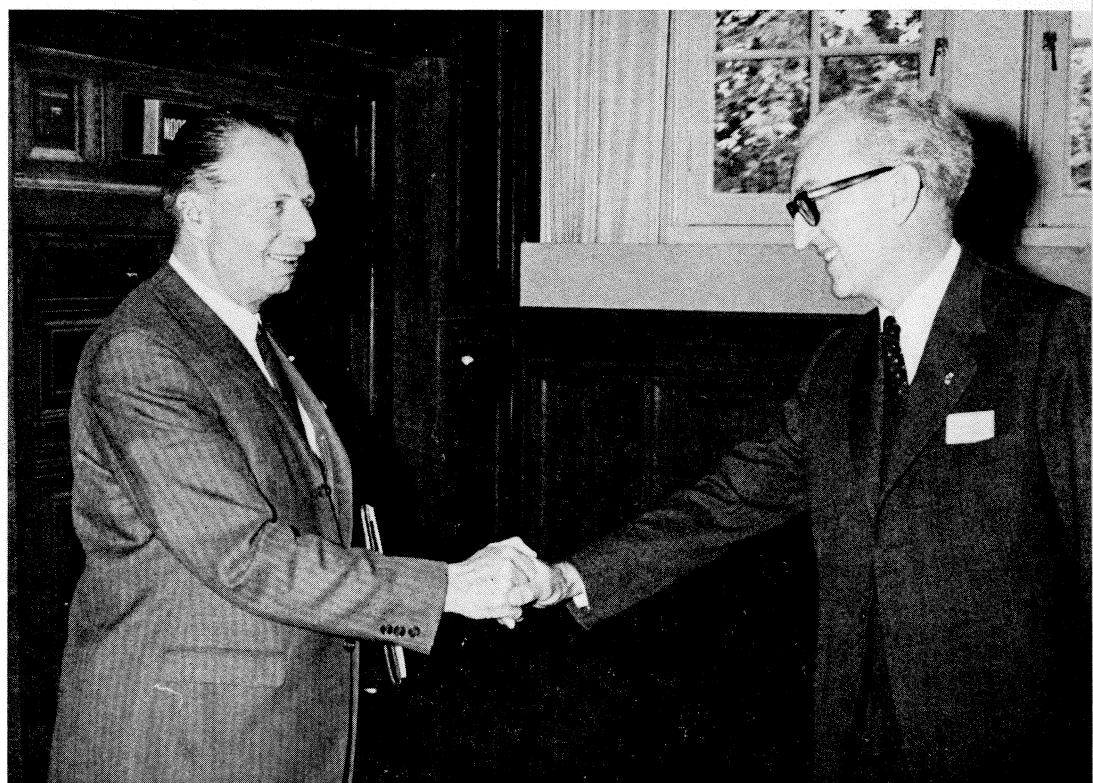
A colloquium affords certain opportunities that are exceptional, perhaps unique, among those afforded by other available means of exchanging thoughts and experiences. The fact of actually meeting men of like profession from distant lands, working with them, discussing with them, and relaxing with them, even for so short a period as one week, can strike the spark which sets off new exchanges or stimulates current ones.

It has been amongst our aims to provide conditions favourable for such personal contacts and the meeting of minds across the frontiers of language and of outlook which too often keep us apart.

I am most grateful to all participants for supporting this colloquium and to all our guests for their presence this morning which gives all the more significance to this event.

Considering the important part that the Netherlands, throughout its long history of international trade in tropical products, has played and still plays in the coffee world it is most fitting that this fourth A. S. I. C. colloquium is being held in the capital of this country and particularly that the Royal Tropical Institute has opened its gates to all of you.

It gives me great pleasure to now introduce to you Dr. NAGTEGAAL, Secretary general of the Royal Tropical Institute, and to ask him to deliver his welcoming address.



Dr NAGTEGAAL et Dr VERHAAR



De gauche à droite :

H. F. JANS

R. COSTE

D. REYMOND

P. NAVELLIER

A. L. GOEDHART

G. VERHAAR

WELCOMING ADDRESS

C. NAGTEGAAL

Secretary general of the Royal Tropical Institute

Ladies and Gentlemen,

It is indeed a great pleasure for me to extend a sincere welcome to all of you, and to express the gratification of our Institute at having been selected as the venue of this eminent gathering. On the, admittedly bold, assumption that I may be satisfying a certain curiosity as to the aims and objects of your temporary host, I may now be allowed to give a brief survey of the activities of the Royal Tropical Institute.

The fact that the « Association Scientifique Internationale du Café » has decided to hold its 4th Colloquium on the chemistry of coffee in our Institute is attributable to the close ties which exist between the two organizations. As you may have seen from the programme, Dr. VERHAAR, the president of the international organization which invited you here today, is also head of the chemical-biological laboratory of our department of Agricultural Research, a division in our Institute which mainly deals with agricultural problems of tropical countries and with tropical products, such as coffee.

The basis for what is now the Royal Tropical Institute was laid in 1910 in response to the expressed desire of Dutch business-circles to further increase the knowledge about tropical areas and their products and to disseminate this knowledge, thus serving scientific as well as practical purposes. As it is, ever since the closing years of the 16th century, when extensive areas in Asia, Africa and America were explored by the Dutch and many Dutch people settled in these lands, a vast storehouse of knowledge and experience had been building up, which was then given a more permanent expression in what, in accordance with prevailing ideas, was called the Colonial Institute ; marching with the times, the Institute has gradually widened its scope, which also brought a change in its name.

The Institute now comprises three scientific departments, which are concerned with the study of life in tropical countries in general and provide an exceptional opportunity for interdisciplinary contacts between the differently engaged members of the staff.

Now as regards the Department of Agricultural Research, the study which is there carried on tropical

agriculture involves intensive research in modern laboratories and the maintenance of an extensive documentation system, which has permanently to be kept up to date.

Numerous filing cards contain the results of elaborate literature research, augmented with data from reports submitted by staff on foreign missions.

I would suggest that some of you may want to contact this documentation centre and consult its files. The Centre also has an important task in handling requests for advice and information relevant to agronomy which reach the Centre from individuals and corporate bodies at home and abroad. Selected results of data-processing are published in the monthly called «Tropical Abstracts », containing excerpts of articles in national and international agricultural magazines. Photostat copies of the full-length articles are available on application. Closely allied to this activity is the tendering of advice *in situ*, members of the staff being often assigned in a consultative capacity to projects carried out in tropical areas.

Next to this department of our Institute which is so closely connected with the main subject of your Colloquium, coffee, there is the Department of Anthropology. This department studies the social aspects of development in tropical areas, and consequently plays an important part in the international development cooperation to which the Royal Tropical Institute contributes to such a large extent. It is the task of the Department of Anthropology through study, research, field-work and post-graduate teaching to further development in conjunction with the relevant international organizations, in the first place U. N. E. S. C. O., but also the Food and Agriculture Organization, and the World Health Organization. This may be illustrated by the cases of a socio-economist, research-fellow in the Department of Anthropology, who was assigned by F. A. O. to work in an advisory capacity as a credit and cooperation expert in the Turkish National Agricultural Bank, and of a social anthropologist of the Department who is now working in Pakistan on a two year assignment concerned with the evaluation of family-planning. In fact, family-planning is a specific subject of the Department of Tropical Hygiene whose staff specializes in the study of tropical

diseases, the causative agents, the carriers and the victims of these diseases. The department is equipped with modern laboratories, such as the laboratory for the preparation of yellow fever-vaccin in the Netherlands. This vaccin is prepared in ten different centres in various parts of the world, and the Amsterdam laboratory is one of these. The department also operates a Medical Research Centre in Nairobi in Kenya, which provides a valuable opportunity for on-the-spot studies. Public health, as you know, involves much more than just the study and curing of diseases. Preventive medicine, which includes nutrition, is also important, which may explain why specialists in the field of nutrition form part of the staff of the department. Needless to add that the requirements of research and the demands made on the department for medical advice involve the staff in extensive travelling and periods of residence abroad.

Education and training are very important activities of each of the three departments. In this respect I may mention that in co-operation with similar organizations in the Netherlands and overseas, the Department of Tropical Hygiene conducts national and international post-graduate courses for Dutch and overseas medical practitioners who will be working in tropical countries. As a rule, training is one of those assignments which are the specific responsibility of particular « sections » of our Institute, sections which are not part of the scientific departments but are grouped under a Central Office. One of these is the Central Bureau for the organization of courses, which is equipped with three language laboratories. Experts and assistant-experts with assignments in developing countries here receive post-graduate training under the auspices of the Bureau of International Technical Assistance of the Ministry of Foreign Affairs ; other training courses are those conducted for teams of the Netherlands Youth Volunteers and for staff members of Dutch business firms to be posted in tropical countries. In all these activities there is extensive reliance on the expertness of individual members of the three departments, several of whom also hold teaching assignments in Dutch universities. Many participants in our post-graduate courses are accommodated in the recently completed International Centre, a modern addition to our buildings. The International Centre serves as a meeting-place for all those who are actively involved with the international development work of our Institute, and provides an opportunity for an exchange of views and ideas, thus emphasizing what

we consider our chief tasks, that is, education, research, consultation and participation in projects.

Another of the sections I have referred to before is the Central Library, which houses a very large collection of books and periodicals on tropical areas. Furthermore, there is the photography section with extensive files comprising documented photos and colour-slides. Apart from the relevance of these collections for scientific research, pictorial illustrations are indispensable to the proper arrangement of exhibitions such as those which are frequently sponsored in our Tropical Museum and also elsewhere. It is to our museum, however, that I would now briefly call your attention. In accordance with the aims of our Institute, we are endeavouring to introduce the visitors to our museum to the manifold problems of the rapidly changing tropical world. Next to a permanent display of representative items from our collections, we arrange temporary exhibitions highlighting specific areas or topical aspects of development. At this time a temporary exhibition is devoted to « India Today », showing a collection of objects brought together by the Principal of the museum and one of his curators during a recent trip through India.

Besides, to mark the occasion of this colloquium, coffee has been made the object of a special exhibition, which you will be invited to visit this morning.

Last but not least among the sections of the Central Office is the Public Relations Office, which has been instrumental in organizing and preparing this Colloquium.

I sincerely hope, ladies and gentlemen, that in the short time available I have succeeded in giving you some idea of the activities and prospects of the Royal Tropical Institute. It goes without saying that any additional information you should require will gladly be provided by our Public Relations Office on the second floor of this building.

Finally, to those interested in legal status, I may point out that our Institute is a corporate society with a membership consisting of private persons and corporate bodies acting through their representatives. Honorary Chairman is His Royal Highness, Prince BERNHARD ; the actual management of the Society has been entrusted to a Board of Governors representative of the members, which delegates powers to an Executive Board.

Remains for me to express, on behalf of our Institute, the sincere wish that your Colloquium may be a most successful one and that all participants may derive the maximum enjoyment and benefit from their stay.

OPENING SPEECH

On behalf of Her Majesty's Government by Mr. A. L. GOEDHART
Promotion of Science Study Department, Ministry of Education and Science, The Hague

Mr. President, Ladies and Gentlemen,

The Minister of Education and Science very much regrets that he is unable to open this congress. I deem it a great honour to welcome you on behalf of Her Majesty's Government.

As you all know, the Netherlands has gladly offered hospitality to foreigners throughout the ages. Its position on the North Sea between important neighbouring countries, combined with the fact that the delta area of the rivers Rhine, Meuse and Scheldt, lies within its boundaries, makes the Netherlands a cross-roads for traffic of all kinds. The country is by nature accessible to people from other lands and is open to influences from abroad. Many foreigners will find something here that is reminiscent of their own national cultures.

Hospitality implies toleration, a quality exhibited as long ago as the sixteenth century by William the Silent, Prince of Orange. Religious toleration was much greater here than in any other country at that time. This seems only natural in a land so open to international trade.

Herring-fishing, coastal shipping and the carrying-trade expanded very rapidly indeed in the seventeenth century. The Dutch were the mercantile captains of Europe and they almost monopolized the carrying-trade for British and French goods. In the last few years of the sixteenth century sailors from the Netherlands succeeded in finding a route to the East Indies and very soon after that, the East India Company was formed. For many years this Company was undoubtedly the greatest trading company in the world. The Dutch drove the Portuguese out of the settlements they had established there years before and succeeded in keeping the British at arm's length. Later on they founded Cape Colony and captured Ceylon.

They established offices in Bengal and ultimately even in China and Japan. Their enterprise enabled them to carry on very profitable and extensive trade with many countries. A West India Company founded settlements in North America and Brazil. At a later date New-Amsterdam, now New-York, was given to the British in exchange for Surinam. A Northern Trading Company with Spitzbergen as its centre set up whale fisheries.

The Netherlands, particularly the coastal provinces of Holland and Zeeland, became one of the most prosperous regions in Europe. By the middle of the seventeenth century Amsterdam had become a great and flourishing mercantile city.

One of the main reasons was that Western Europe's entire money market was located in the Amsterdam Exchange.

It is well known that of the world's three great temperance beverages — cocoa, tea and coffee — cocoa was the first to be introduced into Europe. It was brought over here by the Spaniards in 1528. It was not until nearly a century later, in 1610, that the Dutch brought tea to Europe and it was Venetian traders who introduced coffee into Europe in 1615. The first time coffee was seen in Amsterdam was at the East India Company's public sales in 1661. Coffee played an insignificant role at the Company's Head Office in this country during the grea-



ter part of the seventeenth century ; it was regarded more as a drug than anything else when it was tentatively placed on the European market, but it had long been looked upon as a staple beverage in Asia. The Dutch soon became acquainted with coffee out East.

They first tasted it at Mocha, where Pieter VAN DEN BROECKE in 1616 heard about a particular sort of black bean from which a delicious black beverage could be made. Even in those days coffee was common in all the Mohammedan countries and was found among the multitude of commodities that circulated in Indian-Persian-Arabian maritime trade, in which Mocha played an important part. The Dutch Company was involved in this trade and also dealt in coffee in places such as Persia, Surat and Ceylon.

The Company's great coffee trade in the eighteenth century sprang from European demand. The Europeans' increasing desire for coffee not only afforded the East India Companies a main commodity to trade in, but also gave a fillip to the cultivation of coffee, which so far had only been grown in Yemen and Abyssinia.

In a comparatively short time coffee-growing spread to Java, Isle de Bourbon, the West Indies, Surinam and Brazil.

Jumping forward to the twentieth century, I found an article on coffee in a book published some years ago written by a British journalist H. George FRANKS : « The Netherlands is still the largest coffee market in the world as regards transit and triangular trade. Coffee sales around the Mediterranean, for instance are still largely effected by Dutch firms, although the coffee never enters or leaves a Dutch port. This is true of every sort of coffee that comes from Indonesia, India, Africa, Brazil and Central America. »

In his book « The Romance of Coffee » William UKERS

states that coffee has fired the imagination of many poets, musicians and painters.

UKERS continues : « History records no aversion to coffee in the Netherlands. The Dutch attitude towards coffee was positive. Dutch inventors and artisans gave us many new designs in coffee martars, coffee roasters and coffee serving pots. »

I have quoted those statements in an attempt to indicate how this country's geographical situation and the enterprise of its citizens have caused their shipping and trade to span the globe, thus helping to spread the cultivation of coffee and popularize coffee throughout the world. This has also contributed to your host country's economic growth and her cultural heritage.

There are numerous art galleries, ancient monuments and historic buildings in both Amsterdam and Haarlem. You should go and see some of them if you can.

I hope this Colloquium will be a great success and I hope you will have time to enjoy part of our artistic heritage.

Now, before our coffee break, I would like to invite you to listen with me to Betty's Aria in Bach's Coffee Cantata, whose opening bars are :

« Ah, how sweet coffee tastes-sweeter than a thousand kisses, sweeter far than muscatel wine. »

In German the full text runs as follows :

« Ei, wie schmeckt der Coffee süsse, lieblicher als tausend Küsse, milder als Muscatenwein.

Coffee, Coffee, muss ich haben, und wenn jemand mich will haben, ach, so schenkt mir Coffee ein ! »

Before we go and have a cup of coffee I had better declare this congress open, which I do now.

Thank you.

HARMONIZATION OF FOOD LEGISLATION IN THE EUROPEAN ECONOMIC COMMUNITY



G. F. WILMINK

Cabinet Adviser in General Service
Ministry of Agriculture and Fisheries, The Hague (Holland)

INTRODUCTION

More than twelve years ago, to be accurate on March 25th 1957, the Treaty of Rome, to establish the European Economic Community was signed by six European countries : France, the Federal Republic of Germany, Italy, Belgium, the Netherlands and Luxembourg.

The aim of the Community is clearly stated in Article 2 of the Treaty :

- the establishment of a common market,
- to promote the development of uniform economic activities inside the Community.

To achieve this object, the treaty provides for a certain amount of measures to be taken :

- first of all custom duties and quantity restrictions with regard to export and import of commodities between member-states should be abolished ;
- moreover a common policy in agriculture should be established ;

— last but not least it is indicated that harmonizing national legislations as far as necessary is needed in order to enable free circulation of commodities inside the Community.

National legislations giving rise to secondary trade disabilities in particular, are the different national food legislations. For even if all import duties are abolished and all quotas are removed, if a common policy in agriculture is achieved but there are still legal difficulties concerning definitions, nomenclature, labelling, standards of composition, permitted and prohibited additives, hygiene, packaging methods and weights and measures of food products, there will be no free circulation of these commodities within the Community.

The reason of the divergency in the different national food legislations of developed countries, in particular concerning processed, packaged and formulated foods is their complexity and sophistication.

BASIC PRINCIPLES OF FOOD LEGISLATION

One might wonder about these divergences for, of old, the same basic principles have been used in setting up these laws.

The fundamental principles are :

— the protection of the consumer against damage to his health ;

— the protection of the consumer against exploitation through commercial or industrial malpractice.

Certainly there is no disagreement about these principles amongst European countries. The *bona fide* trade and industry also agree on the philosophy of « health » and « honesty » as this is promoting fair trade.

DIFFICULTIES IN HARMONIZING FOOD LEGISLATIONS

What then are the causes of so many discrepancies in the various food legislations ?

— The legislations may have a different juridical basis and are therefore different in form. We are bound to accept these differences in basis and form, there seems however no reason why every country should not arrive at virtually the same regulations.

A second reason for the inconsistency in food legislations is the difference in national food habits, traditional use and customs which it would be absurd to try or to forbid. These regional differences in food habits for the rest are gradually decreasing and are becoming more and more standardized.

— Furthermore differences in legislation are caused by difference in development of food industry in the various countries. Regulations had to be adapted conti-

nually to new production methods, new raw materials, new compositions and new food additives.

— Another cause of differences in legislation is the interest of national industries. Needless to say authorities framing a regulation, tend to protect their own national industries as part of their national economy.

Realizing that existing food legislation in the six countries of the E. E. C. date from about a hundred years ago and in most cases have been developed without consulting existing legislation of other countries, work in the field of harmonization is cumbersome and constitutes a laborious part of international cooperation. Furthermore it is obvious that in an economic community — and the E. E. C. in fact is such a community — the stress is put above all on economy.

THE PROCEDURE IN E. E. C.

Which procedure now is followed in E. E. C. to harmonize food legislation of member countries ?

This procedure is a very complex and heavy one.

In this work three main institutions of the E. E. C. are involved :

— The Council

Consisting of delegates of the government of each member state. This Council of Ministers has legislative power.

— The Commission

Originally made up by nine members, chosen on behalf of their personal capability, safe-guarding independency. The Commission makes recommendations, is advisory and has executive powers. Since the fusion of the Executives of the three European Communities : The High Authority of the European Community for Coal and Steel, Euratom and E. E. C. in July 1967,

the Commission has 14 members and is presided by Mr. Jean REY from Belgium.

— The Assembly

This European Parliament has no legislative power. The members are members of parliament of the six countries. It acts as a consultative body in respect to recommendations and draft regulations of the Commission.

The Council and the Commission are assisted by an Economic and Social Committee, this committee also being advisory. This committee consists of representatives of all sectors of economic and social life.

The basic rules for the adoption of legislations in the Community are laid down in Article 100 of the Treaty. Here it is enacted that, on proposal of the Commission, the Council shall establish directives for the harmonization of national legislations with unanimity. In taking

decisions in this field the Council shall consult the Assembly and the Economic and Social Committee.

In cases where draft regulations or draft directives of the Commission are closely related to the common policy on agriculture, the Council may rule on Article 43 of the Treaty and establish the regulations and directives with qualified majority. Consultation of the Assembly only is here prescribed.

The preparatory work in the drafting of directives is done by the services of the Commission. The food legislation harmonizing work in particular is done in the Directorate-General of Agriculture and in the Directorate-General of Industrial Affairs.

The Directorate-General of Agriculture, Division VI, under the leadership of Dr. STEIGER, started this work during 1960. A working group, called « working group on food legislation », was set up and governments were invited to assign experts to attend as delegates in meetings of that group.

Later on, the working group was subdivided in sub-groups handling separate foods or related food-stuffs, or groups of related chemicals used in food production.

A working paper for drafting a directive is presented to the experts and discussed in several sessions of the working group or sub-group.

This working paper may be prepared by the services of the Commission, taking into account the existing regulations in member countries or could have been prepared by the appropriate organizations of trade and industry of the Community.

For coffee, coffee products, coffee mixtures and substitutes — by the way up till now not treated in the work on harmonization in the E. E. C. —, « Euca » (Fédération Européenne des Associations des Torréfacteurs de Café), that is the Association of Coffee Roasters Organizations of the E. E. C., and « Afcasole » (Association des fabricants de café soluble), that is the Association of Producers of soluble Coffee of the E. E. C., might prepare such a working document.

In fact, most food industries have their own organization in Brussels.

The more specific scientific questions concerning for

example toxicology, purity specifications, methods of analysis and sampling are submitted to a scientific committee, which members are scientists in the Community, giving their opinion in their capacity of scientific workers in their regular field.

As soon as the chairman of the working group is of the opinion that he has sufficiently consulted the government experts, a wording for a draft-directive is submitted to the European organization of industry, U. N. I. C. E., and to a committee representing the consumers in the E. E. C., asking for comments.

These comments are discussed once more with government experts.

It goes without saying that government experts keep closely in touch with all interested parties in their country.

The final document of the working group now passes the general directories of the Commission to which it may concern and is submitted to the Commission. If the draft is accepted by the Commission, the draft-directive, provided with a preamble and considerations, is sent to the Council.

The Council in his turn now forwards the draft to the Assembly and to the Economic and Social Committee for comments. These comments, together with the draft-directive are now published in the Official Communication Journal of the Communities.

Within the framework of the Council the draft-directive is studied by the Committee of Permanent Representatives. This Committee may invite government experts to consider some problems in an ad hoc working group. The aim of this discussion is to eliminate as far as possible the remaining controversial views of government representatives.

At the latest stage of this long way it should be possible to attain formal acceptance of the directive by the Council.

If so, the directive is notified to member-states and officially published in the Official Journal of the Communities.

After an agreed period of time member-states shall adjust their national legislation to the provisions of the directive.

WHAT HAS BEEN ATTAINED IN THIS FIELD UP TO NOW ?

Since 1960 are finalized :

- a directive on **food colours**, giving a positive list of permitted colours for use in foods and including specifications for purity of these additives ;
- a directive on **preservatives** (antimicrobials) giving a positive list of preservatives permitted for use

in or on foods ; specifications for purity of these chemicals ; including special reference to the use of permitted fungistats on citrus fruit, their tolerances and referee methods of analysis and sampling for determinations of the residues of these fungistats ;

- some regulations in the field of meat hygiene and meat inspection.

Finalized by the Commission, but still for discussion within the framework of the Council are draft-directives on :

- cocoa and cocoa products (chocolate) ;
- anti-oxydants ;
- emulsifiers, stabilizers, thickeners and gelling agents ;
- jams, jellies and marmelades made from fruit ;
- butter ;
- margarine ;
- soups, meat extracts and substitutes ;
- products made from dried dough (pasta), such as macaroni and spaghetti ;
- fruit juices and nectars ;
- a partial regulation on sugar (sucrose) ;
- meat and meat products ;
- poultry and poultry meat.

On Commission level, work is still being done on :

- foods for special diet (dietetic foods) ;
- mineral water ;
- ice cream and dairy ice cream ;
- confectionery and bakery products ;
- labelling ;
- packaging material ;
- flavourings ;
- sugars ;
- artificial sweeteners ;
- milk and milk products ;
- casein ;

- wine and basic products ;
- pesticides and pesticide residues.

If we critically overlook the results of about nine years of work on harmonization of food legislation in the E. E. C. we must say that progress is slow and laborious.

An important reason for that undoubtedly is the required unanimity of voting in the Council. As long as one country has the idea that his own concept is unquestionably right, one cannot expect agreement.

In July 1968 the custom duties in the Community have been abolished, common tariffs have been agreed upon at the outer boundary of the Community. The common market therefore could be realized if food legislation was coordinated, thus no longer hindering multilateral trade between member-states.

It is still the intention of the Commission to gain that goal, the dead-line being the first of January 1970. There is a need for speeding-up the work.

Realizing that one cannot make an omelette without breaking eggs, the Commission is trying to abandon Article 100 and to operate basically on Article 43 of the Treaty, mainly used in regulating the market of agriculture products. In doing so, agreement can be achieved with qualified majority.

Apart from this procedure, the Commission stresses to establish a special committee for foodstuffs to find a shorter way by which more detailed technical problems can be solved.

Quite recently, the Council agreed in principle to set up such a committee.

REVIEW AND SUGGESTIONS

Reviewing the situation on harmonization of food legislation in the E. E. C. one comes to the conclusion that up to now the work of the Commission has been too pragmatic. Less attention is given to basic philosophy.

In the attempt to attain a common market as soon as possible, sometimes food law principles have been mixed up with veterinary law principles and trade law principles.

The work in preparing directives can be divided into work on horizontal directives (for instance food additives) and on vertical directives (different foods).

In the horizontal directives such as those on food colours, preservatives, emulsifiers we notice a certain common philosophy : **the principle of prohibition**, that means that everything that is not expressly authorized is prohibited, resulting in the setting up of positive lists. One should however bear in mind that these lists need some flexibility. New developments in food science might make it necessary to delete a certain permitted additive from the list. On the other hand new additives must

have a chance to become permitted additives, otherwise the machinery should discourage inventiveness and progress in the improvement of food processing.

In some cases the more liberal **principle of abuse** might still be valuable. That means that everything is permitted that is not expressly prohibited, thus a principle resulting in the setting up of negative lists. This might be a realistic approach in authorizing manufacturing processes, permitted flavourings and other problems.

Much attention should be given to end-product specifications. Here we touch the problem of controlling requirements and commonly accepted methods of analysis. In this field very little has been done in the E. E. C. up till now. Cooperation and coordination with international organizations might here be helpful.

Let me say now some final words on **coffee, coffee products and coffee substitutes**.

As I have mentioned already before, no work has been undertaken yet in harmonizing legislation for these pro-

ducts in E. E. C., but sooner or later the preparation of a draft-directive for these foods will have to be started.

What can be helpful for the Commission in drafting definitions product specifications, labelling provisions and so on ?

We hope that it will not be forgotten what has been achieved already in international understanding.

For definitions and some labelling principles one could refer to the International Coffee Agreement (1968).

For soluble coffee a document prepared by « Afca-sole » could be very helpful.

Last but not least I may draw your attention to an inter-

national agreement on coffee, soluble coffee and coffee substitutes in Benelux. The recommendation of January 29th 1968 of the Committee of Ministers of the Benelux countries is a good example for harmonization of food legislation in this field.

In Chapter I it gives short and clear descriptions of the various products, in Chapter II it gives general and special requirements for these products and in Chapter III are summarized the labelling provisions.

What we further need are reliable reference methods of sampling and analysis.

I trust that A. S. I. C. can give a valuable contribution to this necessary annex.

WILMINK (G. F.). — **Harmonisation de la législation sur les produits alimentaires dans le cadre de la Communauté Economique Européenne.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 17-22.

Le 25 mars 1957, six pays européens signaient le traité de Rome qui créait la Communauté Economique Européenne. Le but de la communauté est clairement défini dans l'article 2 du traité : la création d'un marché commun. Pour y parvenir un certain nombre de mesures sont envisagées dans le traité. L'une d'elles signale l'harmonisation des législations nationales pour permettre la libre circulation des produits alimentaires entre les pays membres.

Les législations sur les produits alimentaires sont, dans les pays développés, complexes et compliquées et empêchent réellement le commerce multilatéral, même lorsque d'autres obstacles, tels que les tarifs douaniers, ont été réduits.

L'auteur explique comment le travail d'harmonisation des législations s'effectue au sein de la Communauté Economique Européenne et indique les résultats obtenus jusqu'à maintenant.

Bien que les objectifs et principes fondamentaux des législations sur les produits alimentaires soient les mêmes dans la plupart des pays, les progrès sont lents, car chacun pense que sa propre conception est incontestablement la bonne.

C'est pourquoi, il faut beaucoup de patience, de considération et de respect pour les idées et les habitudes des autres, et la volonté d'aboutir.

WILMINK (G. F.). — **Harmonization of food legislation in the European Economic Community.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 17-22.

On March 25th 1957 the Treaty of Rome to establish the European Economic Community was signed by six European countries. The aim of that Community is clearly stated in Article 2 of the Treaty : the establishment of a common market. To achieve this object, the treaty provides for a certain amount of measures to be taken.

One of these measures indicates the necessity of harmonizing national legislations as far as necessary to make free circulation of food-stuffs between the member countries possible. National food legislations, complex and sophisticated as they are in developed countries, really are hindering multilateral trade even though other disabilities, such as tariffs, have been reduced.

It is explained how work on food legislation harmonization in E. E. C. is done and what has been attained in this field up to now.

Although the fundamental principles and objectives of food legislation in most countries are the same, progress is slow due to the difficulty that almost everybody has the idea that one's own concept is unquestionably right.

Therefore everyone will need patience, consideration and respect for the views and customs of others and show the willingness to reach an agreement.

WILMINK (G. F.). — **Harmonisierung der Lebensmittelgesetzgebung im Rahmen der Europäischen Wirtschaftsgemeinschaft.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 17-22.

Am 25 März 1957 unterzeichneten sechs europäische Länder den Vertrag von Rom, der eine Europäische Wirtschaftsgemeinschaft ins Leben rief. Artikel 2 des Vertrags äussert sich eindeutig über das Ziel der Gemeinschaft : Schaffung eines gemeinsamen Marktes. Zu diesem Zweck zieht der Vertrag eine gewisse Anzahl von Massnahmen in Betracht. Eine dieser Massnahmen erwähnt die Harmonisierung der nationalen Gesetzgebungen um den freien Verkehr der Lebensmittel zwischen den Mitgliederstaaten zu ermöglichen.

In den entwickelten Länder sind die Lebensmittelgesetzgebungen komplex und kompliziert und verhindern praktisch den multilateralen Handel, sogar wenn andere Hindernisse wie zum Beispiel die Zolltarife eingeschränkt wurden.

Der Autor zeigt wie die Harmonisierungsarbeit der Gesetzgebungen innerhalb der Europäischen Wirtschaftsgemeinschaft vor sich geht und unterstreicht die bisher erzielten Ergebnisse.

Obwohl die Ziele und Grundprinzipien der Lebensmittelgesetzgebungen in den meisten der Länder die selben sind, werden nur geringe Fortschritte verzeichnet, denn jeder ist der Ansicht, seine eigene Auffassung sei die richtige.

Es ist daher viel Geduld, Ansehen und Achtung für die Ideen und Gewohnheiten der Anderen sowie der Wille zum Erfolg notwendig.

DISCUSSION

La discussion à laquelle l'exposé de M. WILMINK a donné lieu n'ayant pas été enregistrée sur bande magnétique, il ne nous est pas possible de la reproduire ici. Il s'agissait plus particulièrement de vœux de collaboration.

Nous signalons deux interventions qui avaient été rédigées par leurs auteurs :

M. SMITH : M. Navellier has spoken of collaboration between different organizations. I would like to know if there is any collaboration with Codex Alimentarius in which Great-Britain, which is not a member of E. E. C., is represented, if not is there not a danger of duplication of efforts ?

M. CASTAN : Je voudrais appeler l'attention sur la nécessité d'assurer par tous les moyens possibles la liaison entre les travaux de l'I. S. O. et ceux de la C. E. E.-Bruxelles. En effet, comme je le dirai plus tard, l'I. S. O. aura prochainement terminé certains travaux et il serait regrettable qu'ils ne soient pas pris en considération faute d'être connus.

Nous avons vécu récemment une expérience sur les graines oléagineuses où la C. E. E., ignorant les travaux I. S. O. sur l'analyse de ces graines, s'était orientée vers d'autres méthodes.

Il a été depuis possible de revenir sur la bonne voie grâce à des experts travaillant à la fois à l'I. S. O. et à la C. E. E., et les Recommandations I. S. O. sur l'échantillonnage et les essais des graines oléagineuses ont été reprises en annexe aux textes de la C. E. E.

Nous ne pouvons donc trop insister pour que les experts qui discutent à Bruxelles sur le café puissent être associés aux travaux des autres organisations afin que cette information réciproque soit pleinement assurée.

DOCUMENTATION AND INFORMATION

D. J. MALTHA, T. EERNSTMAN

Centre for Agricultural Publishing and Documentation (Pudoc),
Wageningen, Netherlands

THE SCHEME OF THE CHAIN OF COMMUNICATION

Forty years ago information was no problem. A scientist in any field would know all his colleagues either personally or by correspondence. He considered it his duty to follow progress in his field by reading the few journals of his discipline and exchanging a few letters and reprints with his colleagues. He kept it all in his mind and this was his mental baggage. Textbooks filled the gaps that remained. He kept this mental baggage in material form at home in his study which was arrayed with the shelves of his private library. He needed a scientific library only to consult literature in the rare case that he did not have this literature in his own collection.

For him the lines of communication were not complicated and can be given as in diagram 1.

Their situation has radically changed. Some reasons for this change are :

a) As science has advanced there has been a trend towards increasing specialization and at the same time a growth of correlations between the sciences (inter-

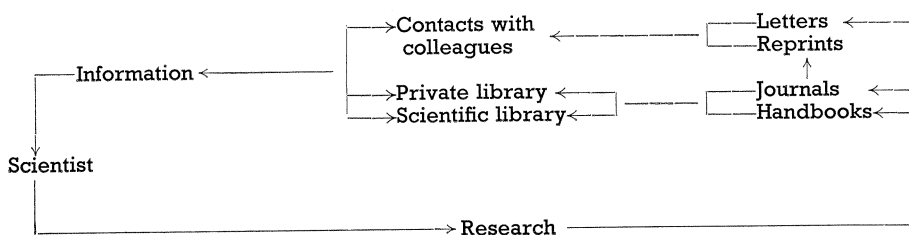
dependence). It is no longer possible for the researcher to keep abreast of the whole of science.

b) The number of publications has increased to such an extent that it is impossible for the individual to maintain a collection of the literature even within a limited field.

c) The possibility of scanning the whole range of new publications is gone. Scientific periodicals can be counted in ten thousands, besides countless series, proceedings, and annual and other reports. Textbooks covering the wide fields of science have lost ground ; they have been replaced by hundreds, if not thousands, of monographs. The report literature has increased alarmingly. This literature has the disadvantage that it is even less coordinated than the journals.

d) The classical western centres of research, writing in western languages, have now been joined by other centres publishing in languages inaccessible to westerners and reciprocally, much of what is published in the west is inaccessible for them.

Diagram 1



There was thus a need for a link between what was published and the scientist : the recording of publications in some sort of system so that information could be obtained on any subject at any moment : documentation. A specialist called a documentalist was needed who could carry out this documentation. As would be expected the problem of inaccessibility of the literature was also diverted to the documentalists.

To make the literature accessible they have made classifications, built up card files, published abstracts, compiled bibliographies, founded national and international centres for documentation and translation.

Later the work took on the task of research into the mechanization and automation of documentation, in particular the development of sorting machines, calculators and computers. Over the years private libraries have become less significant sources of information for the scientist ; he has been forced to make more and more use of the large scientific or special libraries.

At first the scientist thought he could find for himself the information needed for new research. As the literature grew, it became more specialized and documentation systems became more complicated and a new group of specialists took over from the scientist part or all the task of tracing literature.

These specialists must know their scientific field but must also be trained in :

- translating the scientist's request for information into a form suitable for the documentation system,
- handling the available documentation systems,
- finding relevant information from the « crude » information,
- putting this information into a form the scientist can use.

This chain of communication is represented in diagram 2.

With the manufacture of card-sorting and calculating machines, attempts have been made to mechanize part

of the documentation work. They succeeded but the machines worked too slowly.

Now that these sorting and calculating machines have been replaced to significant degree by computers people are trying to feed even more of the work to these computers. They have certainly succeeded in mechanizing all the operations which must be repeated in vast numbers and which are largely administrative : systematic storage of information in giant memories, making indexes from them, reproducing these indexes, alerting scientists to literature which may be of interest to them (S. D. I.).

Most recently comes the prospect of the user being able to consult the information store direct with the computer : self-service with the computer. The intermediary information officer becomes apparently redundant. This chain of communication will be something like diagram 3.

However this nuanced system has two weak points : input and output. Clearly the utility of any system as a source of information depends on the way the information in the documents is put into the store. As long as the scientist is not forced to record his results according to an extremely dogmatic scheme, direct mechanical processing of the whole document will run into trouble. Document analysis remains an operation in which the flexible mind of man cannot be avoided. The farthest that operations have reached is automatic analysis of titles.

The flexibility of the human mind is also needed at the end of the chain. No doubt the computer can give us direct and unambiguous answers to hard and fast questions. But the play of ideas is the essence of many scientists' work and the computer cannot copy it.

So, fortunately, the human factor remains essential in documentation and information. But we must not close our eyes to the chances present techniques offer for the mechanical processing of documentary information.

Diagram 2

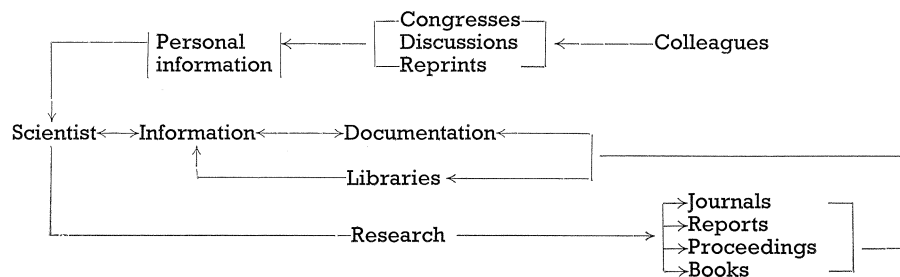
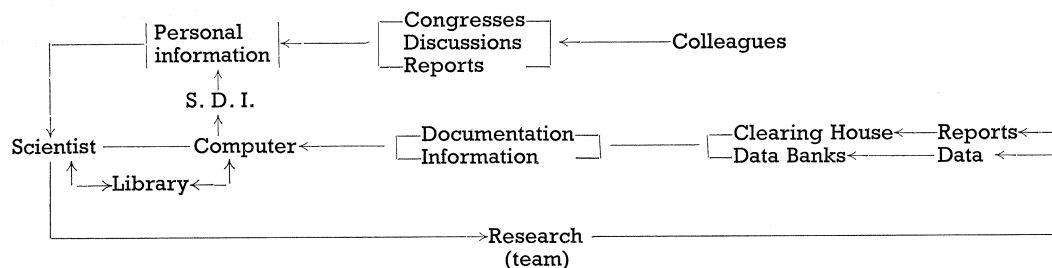


Diagram 3



THE PARTS OF THE CHAIN OF COMMUNICATION

Against this background we must view the different parts of the chain of communication : the basic material, the libraries, documentation and information centres, and the users.

The basic material

The basic material is still largely books, articles from journals, reports and patents. Unfortunately there is no semblance of system in this material ; attempts to order the literature have so far been unsuccessful except for the patent literature. In other spheres anyone is free to start his own journal or report series, to publish his own books, to hold congresses and to publish their proceedings. We have gradually fallen into a chaotic mire, in which scientific and economic motives may be submerged by political, national and even personal motives. The number of publications is increasing in a quadratic curve.

Yet even now it can be predicted that this curve will tend to flatten or fall off. The journal will probably come into a critical phase as a medium of publication and will anyway change in character. The separately published report will probably gain ground over it, because it is easier to manipulate as a separate document. It is to be expected that the composition of these reports will be standardized as far as possible and it is even conceivable that language will have to be standardized.

If this happens, the journals will change in function : they will become more a forum for views and can also act as a source alerting scientists to the reports. Over against these new-style journals, clearing houses for (published and unpublished) research reports should be created either on a national basis or on a disciplinary basis. These clearing houses will have to supply information either directly to the scientists or via the new-

style journals. Their work will not be complete in the providing of a report (on microfiche or in readable copy) whose author and title have been requested but they will have to answer such questions as « Are there any research reports on problem x ? » or even « What data are there from analyses on problem y ? »

The indexing of these reports will have to be very detailed and obviously the computer must play its part in the mechanical processing of the information. It is this mechanical processing that forces extreme standardization ; otherwise human effort for the input remains a source of delay.

Finally, of course, these clearing houses will have to interchange information in view of the interdependence of the sciences.

The library

The function of the library will change too. Experience has already shown that no library, however large, can build up a complete collection in any broad field, e. g. agriculture. All the more so, despite increasing specialization, since the boundaries of the sciences become blurred. More and more direct connexions develop between sciences, e. g. biochemistry, biophysics, biometry and molecular biology connect biology with other sciences.

The original function of the librarian, the care for a certain collection, is thereby being pushed into the background. To the fore is coming the need for co-operation and organization of tasks. Also coming to the fore is the necessity of making the total collection of libraries available to everybody in the country or even in the world.

Effort is therefore being directed to the compiling of central catalogues and interlibrary loans.

Current problems are standardization (bibliographical references, book numbering), techniques of reproduction, mechanical processing, speeding up communication (Telex) between libraries and between the library and the user.

Another aspect of the modern library is free access. The closed stockroom is making way for the open collection. It is being rediscovered that the library user is usually best served by free and often even unsystematic use of a collection. He has to browse to maintain a general view of progress in science.

Whether the cleft will remain between report archives and typical libraries remains an open question. The same applies to where the task of the library ends and that of documentation and information begins. The signs are that they are coalescing.

Yet the fundamental difference is still that libraries make a *collection* accessible whereas documentation makes the literature of a certain *field* accessible, wherever it is stored. In making the literature accessible, libraries fall far short of documentation centres: they do not usually concern themselves with retrieval of articles from journals.

The documentation centre

Documentation centres retrieve journal articles as well as books, reports and patents. Abstracts continue to be the most important means of retrieval, especially to get a retrospective view of the literature on a particular subject.

So far nobody has succeeded in designing an operational system of preparing abstracts mechanically. The immensity of the task of making the scientific literature available by abstracts is illustrated by the fact that a good abstractor averages only six abstracts per day including the selection of the articles to be abstracted.

Every abstract service is thus faced by the dilemma between careful selection of the basic material (and therefore a poorer coverage) and less discriminate abstracting. If the choice is for less discrimination, author's abstracts may be lifted without critical scrutiny.

Another increasingly used solution is international co-operation, in which the basic material is distributed among many abstractors in many countries. This system is operated by such services as Excerpta Medica, World Agricultural Economic and Rural Sociology Abstracts (W. A. E. R. S. A.), Food Science and Technology Abstracts, and Biological Abstracts. Obviously these systems are difficult to organize and can lead to delays.

Once the abstracts are made, mechanical processing is possible. With modern methods such as typewriting

with punchtape and magnetic tape, mechanical reproduction and computer-produced indexes, rapid processing is possible. However, the first operation, the abstracting is such a delaying factor that a period of nine months is considered normal between the publishing of an article and of its abstract.

Numerous attempts have been made to shorten this delay. Many workers have tried to shorten the period by mechanical processing of titles only from articles in journals with a keyword system. Some have gone even further with a short analysis of the article from certain aspects, such as structural formulae of chemicals mentioned in the experiment. Examples of this sort of bibliography are Bibliography of Agriculture from the National Agricultural Library (U. S. A.), the Current Contents publications of the Institute for Scientific Information Inc. (Life Sciences, Chemical Sciences and (shortly) Agriculture, Food and Veterinary Sciences), Chemical Biological Activities and Chemical Titles of the Chemical Abstracts Service and BioResearch Index of the BioSciences Information Service. The indexes are mostly based on the principle of Keyword-In-Context (K. W. I. C.).

An ensuing problem for the documentalist is indexing. Numerous indexing systems have been developed. There are three main lines: a systematic or hierarchical classification, an indexing with keywords, and an arrangement in a facet classification. Each of these systems has advantages and disadvantages. The choice depends largely on the purpose for which the system is intended.

A systematic classification allows the easy reproduction of relationships between terms and the linkage with other terms but leads to rather involved constructions, which may have to be changed with the progress of science. The construction of a keyword system (thesaurus) takes much time and energy to prepare. Once the system is established, it is not too difficult to insert new entries. These systems are ideal for mechanical treatment. Facet classifications are arranged by simple characteristics or properties and are therefore also suitable for mechanical processing. They can only be used in limited fields. In larger fields this system brings insuperable difficulties.

It looks as though the main systems are tending to grow towards one another, even more so now that the computer can handle a systematic arrangement. For the present the incompatibility of the different systems remains a difficulty for the user.

Information retrieval

However the literature is documented and whatever retrieval system is used, it is only a means to an end:

that of improving the supply of information to the user. The British and the Americans, in particular, have made numerous (hundreds !) studies on the needs for information in different groups of users and on ways of meeting these needs. Although the results of these studies are divergent, it is certain that users do not try to satisfy their needs for information only through the documentation services. Personal contacts, exchange of letters and of reprints are among the means on which they rely.

These studies also demonstrate differences between scientists with different specialities and between individual scientists according to age, character and personality.

Equally the information required is far from uniform : it may be general introductory information or complete information, or information on highly specific topics. Finally the speed with which information must be supplied may be important.

Certainly there is no single pattern for the most effective manner and form in which information should be passed to the user. It seems that particularly in America people are mesmerized by potential uses of the computer in documentary processing and neglect the individual needs of the user. Perhaps the tailor-made way in which we at Pudoc and others supply information to individuals is the other extreme and a compromise will be necessary in the future.

We should mention some aspects of the supplying of information.

An important source of general introductory information is reviews or state of the art reports. These reviews by specialists are critiques of literature about the state of knowledge about special subjects.

There is also an increasing demand for current awareness services. These services are geared to the profiles of interest for each user. Their aim is to keep the user continuously and quickly informed of progress on the subjects he is interested in. Many groups have built an S. D. I. (Selected Dissemination of Information) system into their computer programmes. Initially such systems yield much noise (irrelevancies). Continuous correction of the user profile and of the information supplied can cut the noise from 50 % down to 10 or 15 %.

Such current awareness service can also be operated without a computer, as Pudoc's alerting service shows. Of course the number of profiles, that one information officer specializing in current awareness can scan, is limited. At the most he can deal with 40 profiles. But

the information supplied is certainly more fitted to personal needs than that from a mechanical system.

To some degree an offshoot of current awareness services is the system of documentation pools, developed especially in the Netherlands. Such a pool is formed by several concerns or institutes with a common sphere of interest. Each member is responsible for a certain sector of the literature in that sphere and sends the documentation material it produces to a centre, whence they are distributed. Some examples of documentation pools in the Netherlands are in the car industry, aircraft manufacture, air pollution and water purification.

The reverse system can also give useful results. A national documentation and information centre is established for a certain field and it calls on experts for special « Schwerpunkte ». This is the system West Germany has tried to create for agricultural literature. Our Centre for Agricultural Publishing and Documentation works in the same way. In the long run it seems to function better than the huge self-contained documentation and information centres which have been created in Eastern Europe and many developing countries, e. g. India, Pakistan, Turkey.

Obviously the existing systems should be turned into an international network. Various attempts at this are being made in agriculture. International co-operation is particularly apt in the mechanical processing of documentary information and in exchange of punchtapes and magnetic tapes. Of course many technical problems must be solved before such an international network can function. Computer programmes must be interchangeable ; there are problems of uniformity in the-sauri and of linguistics.

A more distant prospect are international on-line systems with computers.

Recent developments have been the establishment of data banks in which numerical data (e. g. chemical and physical constants) can be stored in computer memories. Here again comes the problem of standardization and uniformity.

The provision by computer of good information about the literature in answer to questions is still not perfect, despite advances in technique. So far the computer has often not come up to the skills of the adaptive and selective human brain.

The computer will certainly gain ground in documentary information but it is to be expected that the information officer — the intermediary between the information user and the storage of information — will not become redundant.

ANALYSIS OF DOCUMENTATION OF LITERATURE ON COFFEE CHEMISTRY

This general review of the chain of scientific communication is now followed by a summary of the documentation of coffee literature which the second author has analysed and compiled. (The full analysis is available on stencil.)

The principal object of this analysis was to see how complete a collection of literature on coffee chemistry could be gathered from a few abstract journals and bibliographies. A fairly complete collection would mean that no separate abstract journal on coffee chemistry were needed.

This analysis was of the fields of research studied by the four permanent commissions of this congress. Literature on legislation and standardization, formerly also studied by the first commission, has been ignored.

The literature on coffee chemistry could be roughly divided into 3 groups, each of which can be retrieved from a different group of abstract journals and bibliographies. These 3 respective groups cover articles on :

1. agriculture (mainly on tropical agriculture or especially on coffee),
2. food technology, nutrition and chemistry,
3. medicine, pharmacy, biology and veterinary science.

Initially only **Groups 1 and 2** will be considered.

As far as could be concluded from articles (on coffee chemistry) collected from yearly or half-yearly indexes of 1967 and 1968 volumes of abstract journals and bibliographies, *Bibliography of Agriculture (BoA)* and *Chemical Abstracts (CA)* give at least 85 % of the literature. *BoA* contains most of the articles of Group 1, *CA* most of Group 2. This conclusion was possible despite the fact that the half-yearly indexes of *CA* for 1968 were not yet available when this manuscript was prepared (April 1969). Many of the journals not cited in *CA* in 1967 were mentioned in the *CA* list of periodicals regularly scanned. The proportion of retrieved articles could certainly increase to more than 95 % by consulting earlier and later indexes of *CA* than only that of 1967.

The most recent Coffee Bibliography, 1966, prepared at Lisbon (CoB), proved to contain 9 agricultural journals not scanned for any other 1967 or 1968 volume of bibliographies and abstract journals consulted. If we assume that these 9 journals continued to publish articles on coffee chemistry in 1967 and 1968 but were still not mentioned in *BoA* or *CA*, the retrieval of « all » agricultural journals by consulting only *BoA* and *CA* would decrease, but probably never below 75-80 %.

With *BoA* and *CA* it is also possible to retrieve recent literature, not already included in half-yearly or yearly indexes, because their respective monthly and weekly numbers have subject indexes. *Chemical Titles (CT)* and *Chemical-Biological Activities (CBA)*, both fortnightly issued by the Chemical Abstracts Service, also give early access to literature. Both *CT* and *CBA* contain very recent literature, but they scan far fewer journals than *CA*. This fewness favours rapid insertion and publishing of the most recent data both in *CT* and *CBA*. *CBA* also contains abstracts which can be fragmented for feeding into a computer. *CT* scans 47.1 % of the journals touching coffee chemistry scanned for *CA*, *CBA* only 26.5 %. So later consultation of *CA* is indispensable.

CoB did not form a complete (although late) collection of the literature. The latest issue (1966) mentions about a third of the journals found in the other bibliographies and abstract journals published in 1967 and 1968. But for Group 1 (agriculture) CoB is much more complete (citing 82 % of the agricultural journals cited in the other abstract journals and bibliographies published in 1967 and 1968), and cites 9 journals not mentioned elsewhere. However *BoA* covers even more (about 84 %). *Horticultural Abstracts (HA)* for both years was also fairly complete for agriculture (75 %). *Tropical Abstracts (TrA)* and *Bulletin Signalétique, Section 18 : Sciences Agricoles (BS18)* covered much less (each 43 %) in 1967 and 1968.

At the beginning of 1968 the *Bulletin Bibliographique* of the Centre de Documentation des Industries Utilisatrices de Produits Agricoles, Massy, France (C. D. I. U. P. A.) started, now giving 300 to 350 abstracts each month from 500 journals and other documents, and provided with a keyword index. This bulletin of food technology also contains information on coffee chemistry. Recent developments are recorded promptly in short abstracts. The abstracts from articles of one journal are placed together under the name of that journal. There were not enough numbers available in the Netherlands to make an analysis of its coverage of this subject.

At the beginning of 1969 *Food Science and Technology Abstracts (FSTA)* started. It is regularly scanning over 1 000 journals from over 50 countries ; patents from 18 countries and books in any language will be mentioned too. (*CA* and *BoA* also mention many patents.) Among the journals it scans are 53.7 % of the journals touching on coffee chemistry cited in 1967 and 1968 in *BoA*, *CA*, *HA*, *TrA*, *BS18* and *NAR (Nutrition Abstracts and Reviews)*. If we continue to search for agricultural

literature in *BoA*, *FSTA* seems a very useful approach to journals of Group 2 (food technology, nutrition and chemistry) : it scans about 68 % of these journals. For a more complete coverage it is still necessary to *CA*, but if neither is as yet to hand, *FSTA* is cheaper than *CA*.

On **Group 3**, *CA* is comprehensive enough on important new data and new ideas. French scientists have a very good approach to these subjects by consulting

Section 13 of the Bulletin Signalétique : Sciences Pharmacologiques. Toxicologie. In 1967 and 1968 it cited 27 journals (partly pharmaceutical not cited in *CA* and *BoA*, and also 21 journals already mentioned in *CA*.

For exhaustive searches on certain medical or toxicological influences of coffee drinking, extra information could be gained from large information centres like Medlars and Excerpta Medica.

MALTHA (D. J.), EERNSTMAN (T.). — **Documentation et information**. Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 23-29, fig.

Au moyen d'un premier schéma, les auteurs montrent les modifications qui se sont produites dans les circuits d'information et indiquent les changements auxquels on peut s'attendre encore. A partir de ces constatations, ils exposent les tâches respectives des bibliothèques et des centres de documentation et d'information, puis ils montrent pourquoi les documents de base : livres, articles et revues, rapports et brevets, ne sont pas directement accessibles et quels sont les moyens mis à la disposition des utilisateurs pour y accéder. Parmi ces moyens on peut distinguer les systèmes hiérarchisés (classifications), non hiérarchisés (mots clés) et les systèmes mixtes.

Le but de l'information documentaire est de toujours donner des renseignements qui correspondent exactement à la demande de l'utilisateur. Une différence schématique peut être établie entre les renseignements glanés çà et là, une information complète et une information spécifique, recueillie dans un but précis. Une autre différence peut être faite entre les renseignements rétrospectifs et actuels.

La rapidité avec laquelle les renseignements sont donnés est importante. Toutes ces considérations conduisent à une définition plus exacte du travail que devront tenter d'accomplir dans l'avenir les spécialistes de la documentation.

Les auteurs présentent enfin une courte analyse d'une étude faite sur les moyens qui permettent à l'heure actuelle d'accéder à la littérature sur le café.

MALTHA (D. J.), EERNSTMAN (T.). — **Documentation and information**. Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 23-29, fig.

By means of schemes we will show what changes have occurred in information flow and what changes are to be expected in the future. From them we will derive the tasks of libraries and documentation and information centres. We will discuss why the basic material-books, articles in journals, reports and patents — are not directly accessible for the user and what means he can use as an entry. As means of entry, we will distinguish hierarchical systems (classifications), non-hierarchical systems (keywords) and mixed forms.

The purpose of documentary information must always be to give information to the users, i. e. the information given must always satisfy the needs of the user. A schematic difference can be made between browsing, complete information and specific information for a defined purpose. Another difference is that between current and retrospective information. The speed of supplying information is important too. These facts lead to a fuller definition of what information scientists must try to accomplish in the future.

Finally we will give a short analysis of the present accessibility of literature on coffee.

MALTHA (D. J.), EERNSTMAN (T.). — **Dokumentation und information**. Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 23-29, fig.

Mittels eines ersten Schemas zeigen die Autoren die Veränderungen, die sich in der Verbreitung der Information vollzogen haben und weisen auf die Änderungen hin die noch zu erwarten sind. Von diesen Feststellungen aus legen sie die jeweiligen Aufgaben der Bibliotheken und Dokumentations- und Informationsstellen dar und zeigen warum die Grundbelege, Bücher, Artikel und Zeitschriften, Berichte und Patente nicht direkt zugänglich sind und welche Mittel den Benutzern zur Verfügung stehen um sich Zugang dazu zu verschaffen. Bei diesen Mitteln kann man zwischen hierarchisierten Systemen (Klassifizierungen), nicht hierarchisierten Systemen (Stichwörter) und gemischten Systemen unterscheiden.

Ziel der Dokumentarinformation ist es, stets Auskünfte zu erteilen die genau dem Verlangen des Benutzers entsprechen. Ein schematischer Unterschied kann zwischen den hier und dort gesammelten Auskünften, einer kompletten Information und einer spezifischen in einer genauen Absicht gesammelten Information gemacht werden. Es kann auch zwischen retrospektiven und aktuellen Auskünften unterschieden werden.

Von Bedeutung ist die Geschwindigkeit mit welcher die Auskünfte erteilt werden können.

All diese Erwägungen führen zu einer genaueren Definition der Arbeit um deren Ausführung die Dokumentalisten sich in Zukunft bemühen müssen.

Zum Schluss analysieren die Autoren kurz eine Untersuchung der Mittel, die gegenwärtig erlauben, Kenntnis von dem Schrifttum über den Kaffee zu nehmen.



ÉTAT DE LA NORMALISATION INTERNATIONALE DU CAFÉ

G. CASTAN

Association Française de Normalisation, Paris

RAPPEL HISTORIQUE

Depuis le premier colloque sur la chimie du café, l'Organisation Internationale de Normalisation (I. S. O.) — cette fédération des organismes nationaux de normalisation représentant aujourd'hui une soixantaine de pays — est venue vous exposer ses projets et ses premières réalisations dans le domaine de la normalisation du café et de ses dérivés.

Il est utile, aujourd'hui encore, de faire le point, car, dans le cadre du Comité I. S. O./TC 34 « Produits agricoles alimentaires », et en particulier de son Sous-Comité 8 « Stimulants », le Groupe de travail GT 2 « Café » a vu son activité s'accroître en même temps que la participation des principaux pays intéressés.

Trois réunions de ce Groupe se sont tenues depuis la décision de création en 1964 à la Nouvelle-Delhi, et sa composition est actuellement la suivante :

13 Comités membres ont demandé à participer acti-

vement aux travaux : Argentine, Belgique, Brésil, Etats-Unis, France, Hongrie, Inde, Pakistan, Portugal, République Arabe Unie, Royaume-Uni, Suisse, U. R. S. S.

11 Comités membres sont **observateurs** : Allemagne, Colombie, Cuba, Espagne, Iran, Israël, Madagascar, Pays-Bas, Pérou, Pologne, Tchécoslovaquie.

En outre, afin de compléter cette représentativité des principaux pays producteurs et utilisateurs, des liaisons sont maintenues avec un certain nombre de pays africains producteurs de café, et avec quatre organisations internationales :

- l'Association Scientifique Internationale du Café (A. S. I. C.),
- l'Organisation Internationale du Café (I. C. O.),
- la F. A. O.,
- le Bureau Panaméricain du café.

TERMINOLOGIE

Bien se comprendre, parler le même langage est indispensable aux échanges de marchandises ou d'idées, et il était normal que l'établissement d'un vocabulaire dans le domaine du café et de ses dérivés soit considéré par le groupe de travail I. S. O. comme devant appartenir à son premier programme de travail.

Vous vous souvenez que, lors du troisième colloque sur la chimie du café à Trieste, cette étude fut déjà évoquée, et une réunion particulière eut lieu afin de fixer la position de l'A. S. I. C. sur les premières propositions qui avaient été formulées.

La seconde réunion du groupe de travail I. S. O., qui

suiuit à Moscou en juin 1967, permit de retenir une première liste de 25 termes ne soulevant pas d'objection de principe ; elle a été soumise au vote des membres participants du Comité I. S. O./TC 34, et un certain nombre d'observations ont été formulées. Tenant compte des modifications intervenues dans la composition du groupe de travail et de l'importance de certaines remarques, il a été jugé préférable de demander au groupe I. S. O. de réexaminer les observations techniques formulées sur certains des termes.

Lors de la troisième réunion du groupe I. S. O. qui s'est tenue à Londres au mois d'octobre 1968, une seconde liste fut examinée et 20 nouveaux termes ont vu leur définition acceptée.

L'I. S. O. a estimé nécessaire de se limiter dans cette première étape aux termes intéressant le café vert, à l'exception cependant de deux ou trois termes qui avaient été acceptés dès la réunion de Moscou.

Ont été ainsi définis le café, puis des termes de caractère botanique : cerise, coque, parche, pellicule, et des appellations relatives aux présentations commerciales : café en coque, café en parche, café vert, café préparé par voie humide, café préparé par voie sèche, grain de café.

Le vocabulaire s'est ensuite orienté vers les défauts du café vert : les matières étrangères, les bois, les peaux, ainsi que les fèves défectueuses : fève en parche, noire, demi-noire, immature, blanche, avariée sèche, puante, sure, ridée, malformée, indésirable, marbrée, de couleur anormale, rousse, tachée, blessée au cours du dépulpage, endommagée et infestée par les insectes ; les termes de cerise sèche, d'éléphant, d'oreille, de fève plate, de caracoli, de brisure, de diamètre ont aussi retenu l'attention dans le travail actuel.

Après cette énumération, il peut être intéressant de revenir sur certains des termes qui ont nécessité un échange de vues particulièrement utile.

Pour la définition du **café**, le groupe a pris comme base de discussion l'accord international sur le café, mais il est apparu que l'objectif des deux travaux était légèrement différent, ce qui pouvait nécessiter pour la définition I. S. O. d'avoir une présentation différente, tout en restant conforme à l'esprit de la définition I. C. O. La définition retenue à l'I. S. O. est la suivante :

« Terme générique désignant les fruits et les grains des plantes du genre *Coffea*, généralement des espèces cultivées, ainsi que des produits de ces fruits et grains à différents stades de transformation et d'utilisation, destinés à l'alimentation humaine.

Note : le terme s'applique à des produits tels que la cerise de café, le café en coque, le café en parche, le café vert, le café moussonné, le café décaféiné, le café torréfié, en grains ou moulu, les extraits de café, le café boisson, etc... »

La définition du **café vert** avait été discutée lors de la réunion de Moscou, sans que des conclusions puissent être obtenues ; l'accord réalisé à Londres sur le terme

café facilita les échanges de vues, et la définition suivante a été approuvée :

« Café vert (syn. café brut, café cru) :
Grains de café débarrassés de leur coque. »

La notion de **fève noire** s'appliquait au début des études à la présence de couleur noire extérieurement ou intérieurement. Les enquêtes ont montré qu'une telle acception n'était pas conforme aux règlements de certains pays producteurs. Ainsi, lors de la dernière réunion de Londres, un accord fut obtenu pour distinguer d'une part la fève extérieurement noire et d'autre part la fève noire intérieurement et extérieurement. Il en fut de même pour la fève demi-noire qui a vu cependant, à la demande du Brésil, son appellation modifiée en fève partiellement noire, puisque moins de la moitié est de couleur extérieurement noire ou noire extérieurement et intérieurement.

Les dimensions des **gros bois, des bois moyens et des petits bois** ont été critiquées lors du vote I. S. O. compte tenu des habitudes, mais en plus certains pays comme le Portugal et la Tchécoslovaquie ont souhaité que l'on définisse aussi les grosses pierres, les pierres moyennes et les petites pierres.

La **fève avariée sèche** devra être réexaminée afin d'être discutée en même temps que la fève moisie. Il en sera de même de la **fève sure** et de la **fève puante**, car certains pays (Brésil, Etats-Unis) mettent, d'après les usages, ces deux fèves sur le même plan, alors que d'autres pays (France, Hongrie, Portugal) estiment que la fève puante constitue un défaut réhibitioire. Les études qui se poursuivent à ce sujet permettront, nous l'espérons, de résoudre cette difficulté.

La distinction entre les **fèves endommagées par les insectes** et les **fèves infestées par les insectes** a été décidée à Londres, alors qu'au début la définition unique se limitait à la fève piquée et à la fève scolytée, sans préciser si l'insecte était ou non encore présent. Ce n'est pas un des moindres rôles de la normalisation que de clarifier ainsi les idées, et seul un tel dialogue international permet de trouver les solutions constructives pour éliminer ces entraves terminologiques aux échanges. On en trouve un autre exemple dans la discussion sur le terme coquille, traduit en anglais par « shell », et qui correspondait selon les experts à une notion différente. Il est apparu nécessaire de faire la distinction entre la partie creuse qui se détache d'une fève éléphant lors du décorticage ou de la torréfaction, et que l'on appelle maintenant en français **oreille**, et la partie ovoïde qui peut se détacher d'un grain normal lors du décorticage ou du départage et à laquelle un nom devra être donné.

Ainsi, mot après mot, s'édifiera le vocabulaire de tous les spécialistes du café. Les définitions des opérations, celles des produits dérivés attendent les experts, et nous connaissons bien les difficultés auxquelles nous heurterons avec l'extrait de café. La normalisation est cependant habituée à ces recherches de conciliation, et nous ne doutons pas du succès futur si les participants ont réellement le désir d'aboutir.

ÉCHANTILLONNAGE

Si la normalisation d'un vocabulaire peut apparaître ardue, que dire de l'échantillonnage.

En effet, l'expérience pratique montre dans certains pays, que la recherche d'une garantie suffisante dans la représentativité de l'échantillon oblige à effectuer des prélèvements importants et si nous nous référons au café en sacs, il a été noté que des sondages dans 50 à 100 p. 100 des sacs pouvaient être nécessaires.

Lorsqu'on saura que certaines propositions basées sur le niveau II de la norme militaire américaine MIL-STD 105 D (1963) préconisaient des prélèvements atteignant seulement 30 p. 100 des sacs pour des petits lots, et 20 p. 100 pour des gros lots de l'ordre de 10 000 sacs, on se rendra compte de l'éloignement des positions en présence.

Devant cette opposition, il a été estimé souhaitable de connaître les pratiques existant dans les divers pays ; l'avis des grands ports exportateurs et importateurs peut en particulier être très utile. Certes, une étude

statistique faisant entrer en ligne de compte les paramètres liés à l'hétérogénéité du produit et à la dispersion de production de cette matière première serait nécessaire, surtout si elle vient confirmer les résultats de l'expérience pratique, mais nous connaissons bien les difficultés de telles études.

Une enquête est donc en cours ; elle présente trois plans d'échantillonnage basés soit sur la racine carrée du nombre d'emballages, soit sur un prélèvement de 10 p. 100 des emballages, soit sur un barème dégressif allant de 5 emballages pour une livraison de 5 à 25 emballages, jusqu'à 200 emballages pour une livraison atteignant 10 000 emballages ; elle laisse cependant la porte ouverte à toute autre suggestion ; elle demande aussi, entre autres, s'il faut ou non ouvrir les sacs, quels instruments doivent être préconisés pour les sacs, et quelles méthodes doit-on étudier pour le café en vrac. Les résultats de cette consultation seront examinés lors de la prochaine réunion du groupe I. S. O.

MÉTHODES D'ESSAIS

Les participants du troisième colloque avaient été informés de l'existence de trois avant-projets I. S. O. concernant :

— le premier : l'examen olfactif, l'examen visuel, la détermination de la masse moyenne de 1 000 grains, l'examen granulométrique et l'examen macroscopique pour la détermination des défauts,

— le second, une méthode de référence pour le dosage de l'eau,

— le troisième, une méthode pratique pour le dosage de l'eau.

Ces textes firent depuis l'objet des Projets de Recommandations I. S. O. n° 1445, 1446 et 1447 respectivement, qui ont été soumis au vote de tous les Comités membres de l'I. S. O.

Le Projet 1 445 a été accepté par quinze Comités membres, alors que trois le désapprouvèrent et onze s'abstinrent. Les raisons techniques des votes négatifs concernaient l'intérêt même de la masse de 1 000 grains, la prise d'essai et l'appareillage de l'analyse granulométrique et, enfin, l'énumération des défauts, celle-ci dépendant du travail sur le vocabulaire. Il a par suite été jugé souhaitable de demander au Groupe I. S. O. de réexaminer ces observations techniques avant de pouvoir transformer ce projet en Recommandation I. S. O.

Le Projet 1 446 a aussi été accepté par quinze Comités membres, alors que trois le désapprouvèrent et onze s'abstinrent. Parmi les trois votes négatifs, l'un était motivé par une erreur de formule qui a été rectifiée,

le second avait une raison plus de principe que technique, à savoir la faible représentativité du groupe I. S. O. Nous avons déjà vu que celle-ci s'est largement accrue et nous ne devons pas oublier que cette méthode de référence, de même que la méthode pratique du projet 1447 ont vu leur mise au point effectuée par l'A. S. I. C. après une chaîne d'analyses. Ces résultats analytiques répondent donc d'eux-mêmes à ces critiques. Le troisième vote négatif était motivé par les difficultés pratiques d'emploi de la méthode de référence, évidence reconnue par les auteurs mêmes de cette méthode ; c'est la raison pour laquelle une méthode pratique a été étudiée parallèlement. Le projet 1446 va donc être soumis au Conseil de l'I. S. O. pour devenir une Recommandation I. S. O.

Le projet 1 447 a présenté un résultat de vote voisin du projet 1446, une voix positive s'étant transformée en voix négative. Nous retrouvons la même position de principe que précédemment, et les autres votes négatifs défendent d'autres principes de mesure : séchage à 90° C jusqu'à masse constante ; séchage du grain entier 1 h à 105 ± 2° C puis du grain broyé jusqu'à masse constante à cette même température ; séchage à 105 ± 2° C jusqu'à masse constante ; méthode d'entraînement azéotropique au benzène. L'argument avancé contre la méthode du projet 1447 est sa température trop élevée susceptible de donner des résultats trop forts par décomposition des hydrates de carbone : fructose, glucose. Les travaux de l'A. S. I. C. précités avaient confirmé la méthode de référence par rapport à la méthode de Karl FISCHER

et la méthode pratique retenue par rapport à la méthode de référence. Ils avaient aussi montré l'intérêt de la méthode du projet 1447 sur d'autres techniques opérant à d'autres températures et prévoyant un broyage du grain de café. Ils constituent donc une réponse aux critiques formulées et le projet 1447 va être soumis au Conseil de l'I. S. O. pour devenir une Recommandation I. S. O.

Le dosage de la caféine avait aussi été évoqué à Trieste et intéresse nos deux organisations. A l'initiative du Groupe de travail I. S. O./TC 34/S. C. 8/GT 1 « Thé », qui s'est réuni à Londres en octobre 1968, il a été décidé de créer un sous-groupe de travail « Dosage de la ca-

féine » rattaché à la fois au Groupe thé et au Groupe café. La responsabilité de celui-ci a été donnée au Royaume-Uni, et l'A. S. I. C. a été priée de bien vouloir s'associer à ce travail dans l'esprit de coopération qui a marqué jusqu'à présent les travaux de nos deux organisations.

Deux méthodes sont actuellement à l'étude dans le cadre de ce sous-groupe, une méthode d'origine britannique et une méthode d'origine française ; comme cette question sera évoquée dans le cadre même de ce colloque par des spécialistes de ce problème, ils sauront beaucoup mieux que moi exposer en détail l'état actuel de ces études.

CONCLUSION

Les premiers résultats acquis par le groupe de travail I. S. O., la coopération et l'état d'esprit qui se sont manifestés lors de la troisième réunion du groupe à Londres, permettent d'espérer dans un proche avenir que, grâce à une collabora-

tion active entre les différentes organisations internationales intéressées, de nombreuses réponses pourront être données aux questions posées en matière de normalisation par tous ceux qui s'intéressent au café.

CASTAN (G.). — Etat de la normalisation internationale du café. Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 30-33.

L'Organisation Internationale de Normalisation (ISO) fait l'état des travaux entrepris par le groupe de travail IS. O./TC 34/SC 8/GT 2 « Café ». Les vingt-quatre pays représentés maintenant dans ce groupe de travail permettent, en relation avec les organisations internationales intéressées, une véritable confrontation sur les problèmes intéressant la normalisation dans ce domaine.

Près de cinquante termes ont déjà été étudiés en matière de vocabulaire, et cet important travail, qui s'est surtout orienté jusqu'à présent vers le café vert, complètera son action en s'occupant des produits dérivés et des opérations technologiques.

L'étude de l'échantillonnage se heurte à des positions très éloignées les unes des autres, ce qui nécessitera une enquête afin de rassembler toute la documentation nécessaire.

Diverses méthodes d'essais ont été jusqu'à présent étudiées, et certaines d'entre elles seront prochainement concrétisées comme « Recommendations ISO ». Les études se poursuivent notamment pour le dosage de la caféine.

CASTAN (G.). — The state of international standardisation of coffee. Quatrième Colloque international sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 30-33.

The International Standardisation Organisation (ISO) gives an account of the work achieved by the working group ISO/TC 34/SC 8/GT 2 « Coffee ». The twenty four countries now represented in this working group together with the interested international organisations allow a true confrontation on the problems regarding standardisation in this field.

Close of fifty terms have already been studied concerning the vocabulary and this important work which, so far, has been mainly concerned with green coffee will complete its activity in considering derived products and technological operations.

The study on sampling is opposed by positions which are very widely separated, the ones from the others, and this will necessitate an investigation in order to gather all the required documents.

Various testing methods have, so far, been studied and among them some will soon materialise as ISO Recommendations. Investigations are proceeding particularly on the assay of caffeine.

CASTAN (G.). — Stand der internationalen Normalisierung des Kaffees. Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 30-33.

Die internationale Organisation für Normalisierung (ISO) weist auf die von der Arbeitsgruppe ISO/TC 34/SC 8/GT 2 « Café » unternommenen Arbeiten hin. Die vier und zwanzig nun in dieser Arbeitsgruppe vertretenen Länder ermöglichen, im Verein mit den interessierten internationalen Organisationen eine regelrechte Gegenüberstellung über die die Normalisierung auf diesem Gebiet interessierenden Probleme.

Mehr als fünfzig Ausdrücke wurden auf terminologischem Gebiet geprüft und diese bedeutende Arbeit die bisher besonders auf den Rohkaffee ausgerichtet war wird durch die Derivate und technologischen Verfahren vervollständigt werden.

Die Prüfung der Probenahme stößt auf sehr entfernt von einander liegenden Stellungen, was eine Untersuchung bedingt, um die nötige Dokumentation zusammenzutragen.

Verschiedene Versuchsmethoden wurden bisher geprüft, gewisse darunter werden demnächst in Form von ISO Empfehlungen konkretisiert. Die Arbeiten werden fortgesetzt insbesondere für die Bestimmung des Coffeins.

CONSIDÉRATIONS SUR LE CAFÉ DÉCAFÉINÉ

V. JANS

Association Internationale d'Expertise Chimique

INTRODUCTION

L'opération qui a pour but de priver le café de la presque totalité de la caféine qu'il renferme, à l'exclusion des autres constituants du café, est la décaféination ou encore la décaféinisation.

Les différences de composition entre les diverses sortes de café, exception faite de celles, considérables parfois, concernant la teneur en caféine, se retrouvent chez les cafés décaféinés.

On sait qu'il existe des cafés ne contenant pas ou pratiquement pas de caféine et on peut penser qu'à l'avenir ceux-ci pourront être livrés à la consommation, mais nous n'en sommes pas là ; pour le moment, les produits de ce genre dont nous disposons ne sont pas consommables et les cafés ont des teneurs en caféine variant de moins de 1 p. 100 à plus de 2 p. 100.

Les tentatives pour mettre sur le marché des cafés à teneur en caféine garantie n'ont pas jusqu'à présent été très heureuses.

Le grand public boit du café pour ses qualités gustatives, souvent il recherche aussi l'action stimulante de cette boisson, mais parfois il souhaite éviter cette dernière propriété ; il consomme alors du café décaféiné. Ce produit n'est pas dépourvu de toute action stimulante, mais la teneur en caféine qu'il renferme encore, bien que variable selon les pays, est trop faible pour que la boisson préparée à partir des grains torréfiés doive ses effets

à la caféine qu'elle contient, d'une façon appréciable. On ne peut pas parler du café décaféiné sans faire état des solvants auxquels on a recours pour le préparer et sans traiter la question des solvants résiduels. Ceci nous conduit à envisager le problème du café décaféiné sous l'angle de la diététique et à poser la question : le café décaféiné est-il un aliment diététique ?

La réponse à cette question présente un intérêt considérable, non seulement pour le chimiste, mais aussi pour tous ceux qui s'intéressent au café et non seulement au produit de sa décaféination.

Les retours à des idées anciennes sont assez fréquents pour qu'on se souvienne des débuts du café, quand ce dernier était considéré comme une drogue. D'ailleurs les études du dopage, tout en éliminant jusqu'à présent la consommation de café fort, ont tendance à indiquer qu'on se trouve là à la limite du dopage.

Nous n'insisterons pas sur les effets physiologiques de la caféine qui ne sont pas sans intérêt pour le consommateur de café, et tout le monde sait qu'il ne faut pas en absorber une trop grande quantité. Nous pensons cependant devoir indiquer qu'à notre connaissance il n'existe pas de cas d'intolérance à la caféine aux très faibles doses trouvées dans le café décaféiné.

Nous avons largement puisé dans l'article de Maître KIÉFÉ (*) « Médicaments, produits diététiques et de régime et produits alimentaires de consommation courante » pour la partie juridique de la présente communication.

(*) Docteur en Droit, Avocat à la Cour d'Appel de Paris, Jurisconsulte du Ministère de l'Agriculture, Secrétaire général de l'Association Internationale d'Expertise Chimique.



TENEURS EN CAFÉINE ET EN SOLVANT

La définition du café décaféiné n'est pas la même dans tous les pays, mais partout elle est basée sur deux notions :

1) Le café décaféiné doit consister en café auquel on a enlevé une proportion importante de caféine sans porter atteinte aux autres constituants du café ; mais la définition n'indique pas le pourcentage de caféine enlevée. Elle indique la teneur en caféine maximale qu'un café décaféiné peut contenir.

2) L'extraction de la caféine doit être opérée par des procédés physiques et les solvants utilisés éventuellement doivent être complètement éliminés.

Bien entendu, ces notions ne sont pas appliquées en toute rigueur, sauf en ce qui concerne la teneur maximale en caféine du café décaféiné.

L'extraction de la caféine permet de respecter les prescriptions légales et réglementaires sur ce point sans difficultés excessives et c'est heureux, car le dosage de la caféine dans les cafés décaféinés est une opération longue et délicate à faire avec précision.

Les infractions constatées pour excès de teneur en caféine sont rares.

Il est à noter que la formule décaféiné à 99 p. 100 par exemple n'a guère de valeur, car elle risque de créer la confusion dans l'esprit de l'acheteur. La teneur en caféine, en effet, dépendrait alors de celle présente dans le café et ce qui compte, c'est celle trouvée dans le café décaféiné.

L'examen de la caféine extraite du café montre que celle-ci n'est pas parfaitement pure et il fallait s'y attendre. Les actions conjuguées de l'eau et du solvant à chaud entraînent la dissolution d'autres substances que la caféine ; mais cette dissolution est d'autant plus marquée que le café est plus altéré.

C'est ainsi que les cafés décaféinés dont la couleur est peu ou pas altérée conduisent, toutes choses égales d'ailleurs, à de meilleurs rendements en café décaféiné que ceux qui sont plus foncés.

Les solvants couramment employés ont une action essentiellement physique, car les grains de café sont gonflés par l'eau et dans un premier temps la caféine passe en solution dans l'eau chaude, ensuite elle est extraite de l'eau par un solvant non miscible à l'eau.

On néglige, en schématisant ainsi les opérations, la libération d'une partie de la caféine par hydrolyse de combinaisons de cet alcaloïde, présentes dans le grain de café.

La teneur en eau du grain de café traité au solvant peu miscible à l'eau revêt une grande importance, car si on traite le café pratiquement sec par les solvants utilisés pour la décaféination, on ne dissout que fort peu

de caféine, mais un produit huileux très riche en huile de café.

Si on ajoute trop d'eau, on extrait des substances solubles dans l'eau et il faut prendre des mesures pour recycler l'eau.

C'est ce qui se fait dans les procédés dits de décaféination à l'eau.

En effet, la caféine peu soluble dans l'eau froide est très soluble dans l'eau bouillante, mais cette dernière dissout aussi bien d'autres substances que la caféine. Il en résulterait une perte de rendement en café décaféiné et une modification de sa composition par rapport à celle du café traité, aussi l'eau, après avoir été soumise à l'action du solvant et séparée de ce dernier par décantation, est-elle réemployée.

C'est une modalité qui s'adapte mal au traitement à façon où les lots doivent être individualisés.

De toute façon, il faut éliminer autant que possible le solvant organique qui appartient le plus souvent à la catégorie des substances vénéneuses.

Les progrès dans la fabrication du café décaféiné ont été considérables et je rappelle avoir signalé au cours du premier colloque sur la chimie du café, en 1963, des teneurs atteignant 6 g, par kg, de solvant résiduaire dans le café décaféiné. A ce taux, le café vert a nettement un goût sucré et quand on s'en sert pour faire du café boisson, ce dernier laisse sérieusement à désirer à la dégustation. Aussi avais-je demandé de limiter à 500 mg par kg la teneur en solvant résiduaire.

Cette limite qui paraissait alors utopique à certains, bien que dépassant nettement les teneurs en solvants résiduaires constatées dans la plupart des cafés décaféinés du commerce, est maintenant considérée comme très excessive.

Elle permet cependant de faire des boissons ne contenant que des teneurs négligeables en solvant organique.

Cependant, moins il y a de solvant dans les grains de café décaféinés torréfiés, moins il y a de chance, toutes choses égales d'ailleurs, pour qu'il passe dans la boisson, mais on est loin d'avoir un rapport entre la teneur en solvant du café torréfié et celle de la boisson, car en pratique beaucoup de facteurs interviennent, notamment quand le café décaféiné est hétérogène. Ainsi, un café décaféiné à teneur relativement élevée peut contenir des grains noirs riches en solvant et d'autres en grande majorité peu colorés et pauvres en solvant, ou, au contraire, avec la même teneur être constitués par des grains de teinte uniforme ; dans ce cas, le premier cédera plus de solvant à la boisson que le second.

NATURE DU SOLVANT

La recherche de la teneur en solvant et en caféine présente un réel intérêt, mais il faut aussi connaître la nature du solvant. En effet, les législateurs et les hygiénistes s'accordent pour estimer que seuls certains solvants peuvent être autorisés. Primitivement n'importe quel solvant a pu être utilisé et le benzène était effectivement employé. Il faut dire qu'alors on recherchait l'obtention de la caféine.

L'emploi du café décaféiné considéré comme un déchet de l'industrie de la caféine n'a pas tardé à se développer.

Le trichloréthylène a remplacé le benzène, ici comme dans beaucoup d'autres applications industrielles.

Ensuite le dichloréthylène a permis d'obtenir des produits donnant satisfaction, mais ce solvant qui possède une forme beaucoup plus toxique que l'autre et qui, comme le trichloréthylène, n'est pas un corps saturé, a été critiqué par des hygiénistes craignant la réaction de ces solvants sur les constituants du café, avec formation de produits toxiques.

Il existe une forte tendance à exclure ces solvants de la liste des solvants autorisés pour la décaféination du café et du thé.

Les raisons en faveur de cette exclusion ne sont pas exactement les mêmes, car le trichloréthylène ne peut pas être totalement éliminé sans fournir un produit foncé où la teneur en sucres du café est fortement modifiée et on constate ce phénomène même avec des teneurs en solvants résiduels de 25 mg par kg. Cependant,

ce solvant est assez largement employé tandis que le dichloréthylène paraît avoir été abandonné.

La technique moderne a permis d'obtenir d'excellents résultats avec le chlorure de méthylène qui est le moins toxique des solvants organiques chlorés utilisés pour la décaféination et qui s'élimine d'une façon très satisfaisante.

On a constaté que de nombreux échantillons de café décaféiné ne renferment pas plus de 1 mg de chlorure de méthylène par kg en opérant par déplacement du solvant organique chloré sous courant d'air dans l'eau bouillante et pyrolyse, puis dosage de l'acide chlorhydrique formé.

Les échantillons à l'état vert avaient un aspect très voisin de celui des grains de café non torréfiés dont ils provenaient.

A la suite de travaux russes, on a craint l'action du chlorure de méthylène sur le cerveau, car, à forte dose il est vrai, il modifie le tracé de l'électroencéphalogramme chez l'animal. Des travaux de L. TRUFFERT ont montré que cet effet est fugace et qu'il ne se produit pas avec des doses très supérieures à celles qu'on peut rencontrer dans le café décaféiné.

A ce sujet, il faut rappeler que dans une thèse, le Dr Michèle RINGOT, née JANS, a démontré que, chez le lapin, le trichloréthylène non seulement modifie le tracé de l'électroencéphalogramme, mais qu'il produit une épilepsie définitive si cet animal est rendu chroniquement alcoolique.

Rien de semblable n'a été décelé chez l'homme.

PRÉSENCE DE RÉSIDUS DE SOLVANT

On a essayé de se rendre compte du danger pouvant résulter de la présence de résidus de solvant dans le café décaféiné, même de 500 mg par kg seulement, et on s'est aperçu que des essais de longue durée sur le rat n'avaient pas d'effets nocifs décelables à l'examen morphologique ou histologique.

D'autre part on a comparé les quantités de trichloréthylène ingérées dans une entreprise de nettoyage à sec avec celles ingérées par la dégustation de café décaféiné et il suffit d'un séjour peu prolongé dans l'atmosphère d'une telle entreprise moyenne pour absorber plus de trichloréthylène qu'en buvant du café décaféiné tous les jours pendant une année, sans compter que la voie aérienne est bien plus nocive, dans ce cas, que la voie orale.

Il y a donc deux façons au moins d'envisager le problème de la présence de solvant résiduel dans le café décaféiné : ou on se demande si la dose journalière acceptable laisse une large marge de sécurité, ou on recherche les possibilités techniques permettant d'éliminer le plus possible le produit traité.

En effet, quand on veut pousser très loin l'opération d'élimination du solvant, comme d'ailleurs quand on veut extraire la moindre trace de caféine, cela ne va pas sans détériorer le café.

Il y aurait intérêt à harmoniser la réglementation du café décaféiné dans le monde pour éviter une concurrence entre produits d'inégale valeur et tendre vers la fabrication de café décaféiné irréprochable.

MÉTHODES DE DOSAGE DES RÉSIDUS DE SOLVANT ET DE LA CAFÉINE

Malgré l'importance primordiale de la teneur en caféine à ne pas dépasser, il n'est pas possible de négliger la pureté des solvants qui doit être poussée, la présence tolérable ou non de stabilisateurs et la nature des solvants, ainsi que le taux maximum de solvant résiduaire tolérable dans le café décaféiné. Les méthodes de dosage de ces résidus et la teneur en caféine doivent aussi être précisées.

Il faut éviter de recourir à des méthodes de contrôle trop longues ou par trop délicates. La comparaison du café traité vert avec le café non traité, les teneurs respectives en sucres réducteurs, la couleur, fournissent de précieuses indications.

Il y aurait intérêt à se mettre d'accord sur une méthode rapide de dosage de la caféine et à lui donner une force légale dans des limites qui pourraient être indiquées par le texte réglementaire. Cette façon de faire permettrait aux décaféineurs, qui restent bien au-dessous du

maximum autorisé, de travailler en toute sécurité, quitte, dans les cas où la teneur en caféine s'approcherait par trop de la limite à ne pas dépasser, à recourir à une méthode officielle, plutôt que de procéder à un nouveau traitement de leur café. Il faut dire qu'en pratique ceci ne se produit que rarement et qu'il s'agit d'une exception pour les décaféineurs laissant une marge de sécurité suffisante.

Pour la détermination du solvant résiduaire, la chromatographie en phase gazeuse donne rapidement des résultats, mais ici l'industriel sait ce qu'il utilise ; l'intérêt de pouvoir être fixé rapidement joue pour le solvant résiduaire qu'il faut déterminer quantitativement. Ici, la méthode par pyrolyse des produits entraînaibles par l'air quand le café torréfié en grains est placé dans l'eau bouillante paraît s'imposer.

Elle peut être à la fois rapide et précise.

LES DIFFICULTÉS DE L'INDUSTRIE DE DÉCAFÉINATION

La pratique de la décaféination montre que certaines règles ne sont pas sans présenter de sérieux inconvénients pour cette industrie qui doit récupérer et distiller des quantités considérables de solvants. Les obligations imposées par crainte que les appareils puissent servir à distiller de l'alcool clandestinement pourraient sans doute être considérablement assouplies.

Ceci concerne d'ailleurs d'une façon assez générale les industries utilisant et distillant des solvants organiques chlorés.

Peut-être faut-il aussi signaler les difficultés résultant

des grains de café brisés. La réglementation sur les brisures paraît avoir dépassé le but recherché ; il devrait y avoir possibilité de justifier la détention de grains brisés et ceux-ci devraient pouvoir être utilisés pour la préparation de café moulu et de café instantané.

Il n'est pas possible en effet de distinguer ces derniers produits, obtenus à partir de brisures, de ceux obtenus à partir de grains broyés et ceci pose un problème de concurrence internationale qui mérite de retenir l'attention.

LE CAFÉ DÉCAFÉINÉ

Le café décaféiné a fait d'énormes progrès en ce qui concerne sa présentation à l'état « vert », ce qui permet sa torréfaction dans des appareils continus où la variation de la couleur permet de régler l'opération. D'autre part, il contient de moins en moins de solvant résiduaire et tend, tout au moins dans le procédé au chlorure de méthylène bien conduit, vers la teneur de 1 mg, par kg, de solvant chloré dans le grain de café torréfié.

Les hygiénistes les plus exigeants ne peuvent pas considérer un tel taux comme susceptible de porter la moindre atteinte à la santé publique, car on ne retrouve pas de dérivé chloré dans le café boisson. Il est même remarquable de constater que les cafés témoins fournissent parfois des résultats plus élevés en chlore orga-

nique entraînable que les cafés décaféinés. On a pensé que ceci était dû à la présence de pesticides chlorés et notamment à celle de D. D. T., mais nous n'avons pas vérifié cette hypothèse.

Le goût du café décaféiné a été longtemps un frein à son développement, le consommateur jugeant cette boisson à sa dégustation.

Les produits qui se trouvent actuellement sur le marché sont satisfaisants, comme le montre leur consommation accrue malgré un prix supérieur à celui du café non décaféiné. La nécessité d'employer davantage de café décaféiné que de café non traité pour obtenir une boisson équivalente à la dégustation n'est pas en faveur du café décaféiné. La tentation de servir du café bois-

son ordinaire au lieu de café décaféiné est très grande et la mise au point d'une méthode simple de distinction de ces boissons devrait être mise à la disposition du Service de la Répression des Fraudes et du Contrôle de la qualité.

La précipitation par l'iode-iodure de potassium, par exemple, pourrait être utilisée comme procédé de triage, le laboratoire étant consulté en cas de doute, ou pour confirmation éventuelle en cas de fraude.

Nous ne nous étendrons pas sur des cas où la méconnaissance de ce qu'est le café décaféiné conduit à des remarques et à des articles de revues pour le moins erronés. Citons l'affirmation que le café décaféiné contient autant de caféine que le café ordinaire. Ceci n'est exact qu'en cas de substitution frauduleuse et on ne peut pas généraliser ce cas particulier. On a aussi dit qu'on décaféine le café au benzo-pyrène. Nous n'insisterons pas après ces exemples.

Les cas où on rencontre des excès de solvants résiduels étant ceux où le trichloréthylène a été utilisé, la mise en évidence de ce produit a pu se faire rapidement et avec une certaine précision en utilisant la réaction colorée que ce solvant donne avec la pyridine et la soude caustique.

Cette réaction permet d'opérer sur les grains individuels et peut rendre des services.

LE CAFÉ DÉCAFÉINÉ, PRODUIT DIÉTÉTIQUE ?

Nous ne pouvons pas terminer cet exposé sur le café décaféiné sans signaler que, tout au moins en France, il a été envisagé de considérer le café décaféiné comme un aliment diététique au sens du décret du 25 mars 1966, qui est postérieur au décret du 9 septembre 1965 réservant la dénomination « café décaféiné » au produit résultant soit de l'élimination de caféiné du café torréfié, soit de la torréfaction de café vert décaféiné. Le texte précise la teneur en caféine anhydre à ne pas dépasser par rapport au produit supposé sec, mais il se contente de donner des indications générales en ce qui concerne les solvants. Ceux-ci doivent être sans action chimique et éliminés du produit mis en vente. Le procédé utilisé pour l'élimination de caféine ne doit pas priver le café d'aucun autre de ses constituants utiles.

L'étude des textes fait ressortir que le café décaféiné, tel qu'il est défini par le décret du 9 septembre 1965, est, comme le café, un produit alimentaire.

Il faudrait qu'il soit présenté comme possédant des propriétés particulières concernant la santé humaine, ou comme convenant à la pratique de certains régimes ou à l'alimentation infantile pour qu'on puisse envisager de le considérer comme un aliment diététique, mais il en serait de même pour le café.

On peut penser qu'il y a place pour un aliment diététique entre le café et le café décaféiné, mais les produits

Il faut aussi signaler la désignation abusive de marques, le café décaféiné X demandé étant remplacé par une marque différente de celle commandée à l'insu du consommateur.

La teneur en extrait sec du café décaféiné boisson n'a pas encore trouvé une solution satisfaisante en pratique. Théoriquement elle devrait être très voisine de celle du café avant décaféination, torréfié de façon semblable, à la teneur en caféine près.

Le cas du café décaféiné « instantané » ou « soluble » répond à la demande d'un certain nombre de consommateurs et, du fait de sa présentation possible en sachets individuels, il ne se prête pas à une facile substitution frauduleuse.

Son emploi tend à se développer et à l'usage on peut se demander si on n'a pas extrapolé d'une façon trop large les règles s'appliquant au café décaféiné en grains.

En effet, la préparation du café « instantané » ou « soluble » pousse l'épuisement bien plus loin que ne le fait la ménagère.

Comme pour la teneur en solvant résiduel, les limites à ne pas dépasser sont heureusement rarement atteintes dans ces produits et l'individualisation résultant de l'emballage permet au consommateur de choisir la marque qui lui convient le mieux.

diététiques doivent se différencier nettement des produits de consommation courante de même catégorie, soit par leur composition, soit par la préparation spéciale dont ils ont fait l'objet.

À ce sujet, il convient de rappeler le principe qui a inspiré le décret du 25 mars 1966 ; le législateur a voulu que des garanties sérieuses soient données non seulement aux acheteurs, mais aussi aux membres du corps médical et aux diététiciens qui ont à observer, à prescrire ou à surveiller des régimes alimentaires.

Ces garanties existent pour le café décaféiné tel qu'il est défini par les réglementations en vigueur et aucun pays n'a considéré le café, ni le café décaféiné, même à l'état « soluble », comme un aliment diététique.

On pourra, en agissant sur la composition des produits définis par le décret du 9 septembre 1965 et les arrêtés d'application de ce décret, en les appauvrissant ou en les enrichissant en un, au moins, des constituants habituels, ou en leur ajoutant des produits chimiques ou des substances biologiques dont l'emploi sera spécialement autorisé par les arrêtés prévus à l'article 5 du décret du 25 mars 1966, préparer des aliments diététiques si on les présente comme possédant des propriétés particulières concernant la santé humaine ou convenant à la pratique de certains régimes ou à l'alimentation infantile.

Bien entendu, ils devraient effectivement posséder les dites propriétés et le café décaféiné, pas plus que le café, ne saurait être l'objet d'une publicité faisant état de telles propriétés sans passer dans la catégorie des aliments diététiques ou en contravention avec la réglementation sur ces produits.

On peut se demander si certaines obligations imposées aux aliments diététiques ne devraient pas s'appliquer au café décaféiné, c'est-à-dire la mention sur l'étiquette du fabricant ou de l'importateur, d'une façon permettant de le trouver en cas de besoin, de la valeur calorifique, des teneurs en glucides, protides, lipides, ainsi que la liste des composants, la teneur de tout

composant ou élément indiqué comme conférant une propriété particulière et plus généralement toutes modifications apportées à l'aliment.

Seule la mention relative au fabricant ou à l'importateur s'applique ici, ainsi que celles concernant le poids net et la date de fabrication ou, s'il y a lieu, la date limite de consommation. Pour la date de fabrication, seule la date de torréfaction aurait un sens.

Quant aux précautions à observer pour la conservation du produit, on sait que le texte sur le café les a prises et toutes les mesures souhaitables, non encore exigées, sont en pratique appliquées ; la date limite d'utilisation est en effet de plus en plus souvent indiquée.

CONCLUSION

Le café décaféiné est une boisson saine qui bénéficie des efforts de l'industrie de la décaféination pour éliminer sélectivement la caféine du café et pour ne laisser que des traces de solvant qu'on ne retrouve pas dans le café décaféiné boisson à des doses appréciables.

Dans tous les pays il est considéré comme un aliment ordinaire, au même titre que le café.

L'industrie de la décaféination se heurte à des difficultés en ce qui concerne la récupération des solvants, le dosage rapide de la caféine, les grains brisés en

cours de fabrication, mais des dispositions réglementaires pourraient, sans inconvénient pour la santé publique et les intérêts du trésor, y mettre fin.

Les cas de fraudes ne devraient pas être à l'abri de la répression.

La possibilité de la fabrication d'un « café décaféiné diététique » auquel d'autres produits que la caféine seraient enlevés n'est pas à exclure et la question de la publicité « diététique » mérite d'être envisagée.

JANS (V.). — **Considérations sur le café décaféiné.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 34-39.

L'auteur insiste tout d'abord sur l'intérêt qu'il y aurait à harmoniser la réglementation du café décaféiné dans le monde. Il montre ensuite les difficultés auxquelles se heurte l'industrie de décaféination et les efforts faits par cette dernière pour éliminer sélectivement la caféine du café et pour ne laisser que des traces de solvant. La mise au point de méthodes rapides de détermination des teneurs en caféine et en solvant serait très utile.

L'auteur donne également quelques caractéristiques du produit fini et envisage les cas où, en France, le café décaféiné pourrait être considéré comme un produit diététique.

JANS (V.). — **Considerations on decaffeinated coffee.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 34-39.

The author insists, first of all, on the interest which would result in harmonising regulations on decaffeinated coffee in the world. He then shows the difficulties encountered by the decaffeination industry and the efforts made by this latter to eliminate selectively caffeine from coffee so as to leave only traces of the solvent. The perfecting of rapid assay methods of caffeine and solvent would be very useful.

The author also gives some characteristics of the end-product and faces the possibility where, in France, decaffeinated coffee could be considered a dietetic product.

JANS (V.). — **Betrachtungen über den entcaffeinieren Kaffee.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 34-39.

Der Autor unterstreicht zuerst das Interesse einer Harmonisierung der Verordnungen über den entcaffeinieren Kaffee in der Welt. Er weist sodann auf die Schwierigkeiten hin welche die Industrie der Entcaffeinierung antrifft sowie auf die Bemühungen dieser Industrie um eine selektive Trennung des Coffeins vom Kaffee durchzuführen und nur Spuren des Lösungsmittels zu hinterlassen. Die Fertigstellung von Schnellmethoden zur Bestimmung des Gehalts an Coffein und an Lösungsmittel wäre von grossem Nutzen. Der Autor gibt weiter einige Merkmale des Endprodukts bekannt und untersucht die Fälle in welchen der entcaffeinieren Kaffee in Frankreich als ein diätetisches Produkt angesehen werden könnte.

Une séance de travail

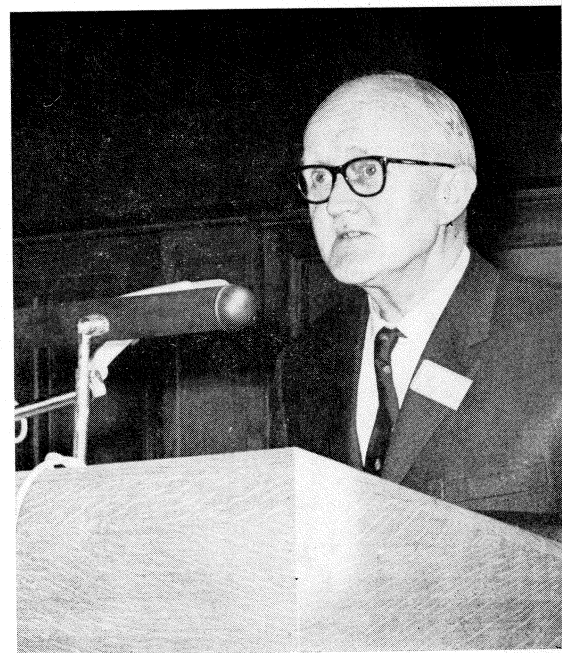


RECENT ADVANCES IN THE CHEMISTRY OF COFFEE

A REVIEW

R. F. SMITH

Society of Chemical Industry



A report on coffee is included in the Annual Reports of the Progress in Applied Chemistry for 1968, published by the Society of Chemical Industry (1). That report covers publications during that year and also reviews developments during the preceding ten years or so. During that period considerable progress was made in the knowledge on the chemistry of coffee, made possible by the introduction of modern techniques, including paper, thin-layer and gas chromatography, infra-red, ultra-violet and mass spectrometry. The bibliography comprises 258 references classified under the headings of raw coffee, roasting, roasted coffee, aroma, minor constituents and instant coffee. It also reviews

papers read at the preceding three International Symposia on the Chemistry of Coffee.

I will however now confine myself to publications that have appeared during the two years since the last symposium at Trieste, and as far as is possible bring the bibliography up to date. Although there have been no outstanding advances during that period, there have been some interesting publications on various, although disconnected, aspects about some of which we will be hearing more during the course of this week.

I should first mention the Annual Report of the Portuguese Tropical Institute for 1967 (2), which covers in addition to chemistry other aspects, including the culture of coffee.

RAW BEANS

I will first briefly deal with factors that influence the quality of green coffee. There has been a report from Brazil on the effect of N-P-K fertilisers on the quality of the resulting beverage (3). NORTHMORE, in Kenya, has examined factors that affect the quality of Arabica coffee, and has suggested that chlorogenic acid may be a constituent of the green pigment that is an indicator of good quality in the bean. It is interesting to note here that a suggestion has been made that the so-called « viridic acid », formed by exposure of raw beans to air in the presence of alkali, could be used as a natural colouring matter, no doubt as a replacement for synthetic dyes (5).

The volatile constituents (mainly aldehydes) of green coffee have been examined ; it was concluded that acetaldehyde could be used as a possible indicator of over-fermentation (97).

A relationship between polyphenoloxidase activity of coffee beans and quality of the beverage has been reported (6). The presence of β -fructofuranosidase was concluded from the observed liberation of fructose from sucrose, raffinose and stachyose when raw beans were soaked in water (7), and the changes in these three oligosaccharides during soaking and germination have been studied (8). A further investigation of the polysaccharides of coffee has been reported by THALER and

ARNETH (9) ; they isolated cold- and hot-water soluble fractions from raw beans. Incidentally, the use of coffee bean parchment as a raw material for the manufacture of rayon fibre has been patented in the U.S.A. (10).

The biosynthesis (11) and distribution (12) of caffeine in coffee leaves, and the cystine and cysteine contents of the protein of raw beans (13) have been examined.

From Brazil it was reported (14) that the high content of unsaponifiable matter in the oil is a disadvantage in the production of soap or edible oil from low-grade café-expurgo. The addition of coffee oil meal to the diet of growing chicks has been found to reduce the gain in weight and had toxic effects (98). According to HARMS and WURZIGER (15) the hydroxytryptamides of higher fatty acids in the outer waxy layer of the beans have an anti-oxidant action and affect the acceptability of coffee.

ROASTING

General accounts of coffee processing and technology have been given by CLARKE (24) and by BARBERA (25). Advantages have been claimed for the electronic sorting of coffee beans (26) and the use of a flame ionisation detector to control roasting has been reported (27). The physical, chemical and organoleptic changes (29) and the transformation of fatty acids (30) taking place during roasting have been investigated. The relationship between the method of roasting and quality was investigated by Mrs KELEMAN-SZILAS (31) ; pressure roasting was said to improve Robusta coffee. The thermal decomposition of caffeine and chlorogenic acid at the temperature of roasting has been studied by means of Differential Thermal Analysis (28).

There have been reports of investigations of the possible presence of carcinogenic hydrocarbons in roasted

coffee (32, 33). Although these compounds, *e. g.*, benzo[*a*]pyrene, have been found in the soot and tar from coffee roasters and in the burnt silver skin, they were found in dark roasted coffee only (33), thus confirming reports made at previous symposia, and the benzo[*a*]pyrene content of roasted malt coffee was much higher than that of genuine roasted coffee (33). General accounts have been published on the effects of baking, grilling and roasting on the production of carcinogens in food (including coffee) (36, 37). The extraction of benzo[*a*]pyrene has been examined, and the solubility in water was found to be increased by caffeine, but at much higher concentrations than are normally found in coffee (34), and the solubility was also increased by ascorbic acid (35).

There have been reports on the use of phosphine for the fumigation of warehouses (21) and on the determination of phosphine residues in food, including coffee (22). The use of aluminium phosphide for the generation of phosphine for cleaning coffee bags is reported to be a fire hazard, on account of the exothermal reaction involved (23).

MAIER and DIEMAIR failed to detect histamine in roasted coffee (47).

The determination of chlorinated solvent residues (48) and the possible incorporation of trichlorethylene by green coffee during decaffeination (49) (118) have been studied. Incidentally, the use of methylene chloride for decaffeination is now permitted in the U. S. A. (50).

The disposal of extracted residues from the manufacture of instant coffee is still a major problem ; their composition and calorific value have been determined (99). BARBERA has patented processes of production of by-products in the form of amino acids (51) and fatty acids (52), but so far the only satisfactory solution appears to be to burn the residues and use the heat developed to supplement the air heaters (53).

There have been several reports on the separation of coloured and flavoured constituents from roasted coffee. MAIER *et al.* (38) obtained eight fractions, including MAILLARD compounds, by fractionation on Sephadex G-25. KLÖCKING *et al.* (39, 40) isolated brown so-called « humic acids », containing amino acids, from coffee extracts. WOLFROM and ANDERSON (41) isolated a soluble arabinogallactan, and a soluble mannan previously reported by THALER (42), and THALER and ARNETH later (117) examined the polysaccharides of roasted coffee.

Reviews on the physiological action of coffee have been published (43, 44), in addition to reports on examinations of the effects of methods of treatment of the coffee on the compatibility of the beverage (45, 46).

ROASTED COFFEE

AROMA

A third paper by RADTKE *et al.* (54) suggests that the less-volatile aroma fraction contains the most important flavour constituents, but the authors failed to detect any new compounds in the aroma from stale coffee. Further reports have been published on the composition of coffee aroma (55-60); they have added to the number of compounds identified. There have been reports on carbonyl compounds (61), volatile acids (62), nitrogen compounds (57, 58) and sulphur compounds (63, 64). A Swiss study course on the aroma and flavour compounds

of food included contributions on the aroma of roasted products, including coffee, by STREULI (65) and of coffee itself by WINTER *et al.* (66). An Italian review on aroma was published (67).

An attempt to correlate the results of G.L.C. analysis with flavour was reported (68). The permeation of polythene film by the gases from roasted coffee was investigated at C.I.V.O. in the Netherlands (69). The preservation of aroma by storage of coffee in nitrous oxide has been patented in the U.S.A. (70).

COFFEE ANALYSIS

The regulation and the analysis of coffee, including the determination of caffeine, have been discussed by NAVELLIER (71). Recommended methods of analysis have been revised by the Society for Analytical Chemistry (72). Methods for determining loss on drying of roasted coffee were investigated for the Association of Official Analytical Chemists (73); drying in an air oven at 105° was found to be unsatisfactory, but drying in a vacuum oven at 98°-100° was recommended and has since been adopted by the A.O.A.C. as an official method (74).

The determination of chlorogenic acid has been reviewed (75). LEHMANN *et al.* have published a method of separation on a micro-column of polyamide powder followed by spectrophotometric determination (76, 77). There have been several papers on the separation of chlorogenic acid from its isomers (78) and from caffeic acid, ferulic acid and cynarin (79, 80) by the use of paper or thin-layer chromatography.

Methods for the determination of caffeine have been investigated for the A.O.A.C. (81) and a spectrophotometric method (82) has been adopted as official for decaffeinated coffee (74). A spectrophotometric method, without preliminary separation of the caffeine, was claimed to be suitable for instant coffee and pharmaceutical tablets (83). D'ORNANO *et al.* have made a compa-

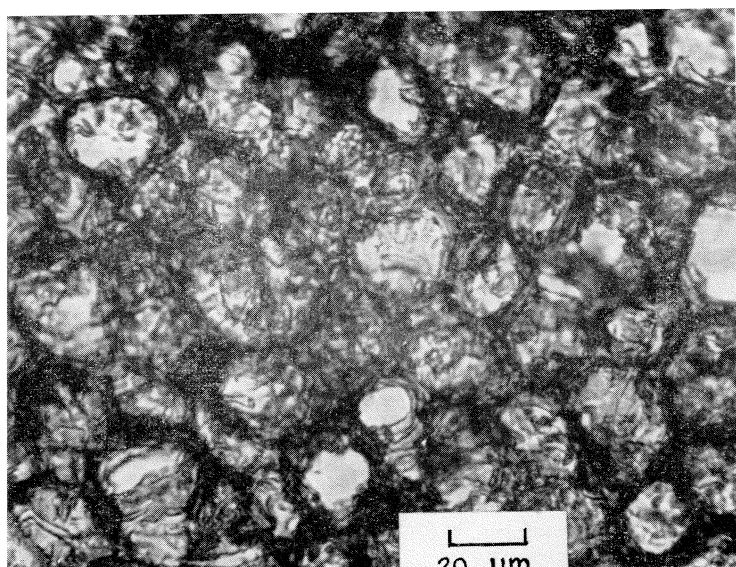
parison of spectrophotometric methods (84). Methods for the titration of caffeine in non-aqueous media, either visually (85, 86) or electrometrically (87, 88, 89), have been published.

Theobromine and theophylline have been detected and determined in raw coffee (90, 91) and have been determined in the presence of caffeine after separation by T.L.C. (92, 93, 94).

The compositions of sixteen coffee substitutes used in Turkey have been determined (95). The determination of lauric acid by G.L.C. has been used to indicate adulteration of coffee with roasted doum palm nut (96).

After the completion of this report, a few more publications have come to my notice. NORTHMORE has reported on an investigation of « stinkers » (119). There has been a report from India on the acid-soluble polysaccharides of coffee beans (120). Benzo[a]pyrene has been determined fluorimetrically in media of caffeine (120), which already had been shown to increase its solubility (34), and published methods for coffee have been applied to the determination of caffeine in cola nuts (122). Determinations of soluble solids contents have been used to determine whether espresso coffee has been prepared correctly (123). Coffee brewed with water containing lead has been shown to contain less lead than the water used (124); presumably the lead is adsorbed by chlorogenic acid.

Section of roasted coffee bean



CONCLUSIONS

In conclusion, I will very briefly sum up the present state of our knowledge on the chemistry of coffee. The composition of raw coffee has been fairly well established. The water-soluble material is known to include sucrose and other oligosaccharides, chlorogenic acid and its isomers, the constitutions of which have now been established (100-103), other non-volatile acids, including citric, malic and tartaric acids (107), caffeine, trigonelline, protein and mineral matter. The water-insoluble matter includes a mannan and cellulose (104, 105), pro-

tein and the oil. The fatty acid composition of the oil is known (14, 99, 106), also the composition of the unsaponifiable matter, which may comprise up to 12 % of the oil (14), and the constitution of the main constituents, the diterpenes cafestol and kahweol, (108-111) are known.

We know less about the composition of roasted coffee. During roasting the water is first evaporated, then as the temperature increases the soluble constituents start to decompose. Sucrose is almost completely destroyed, the chlorogenic acids (28) and trigonelline are partially destroyed according to the degree of roasting, but caffeine is only slightly affected (28). The soluble poly- and oligosaccharides undergo some changes, with a partial destruction and production of other soluble material (117). However, little is known about the composition of the non-volatile flavour constituents, which have been vaguely described as caramel substances, MAILLARD compounds or humic acids.

Much more is known about the composition of coffee aroma, perhaps too much, for although over 300 compounds have now been identified, very little information has been published on the relative importance of the constituents, and it is possible that many of them may be formed as artifacts during the separation process and during G.L.C. analysis.

I would like to suggest that more attention should be paid to the aroma precursors, just as has been done

by ROHAN in the case of cacao (112, 113). It is considered that in coffee alcohols, aldehydes and acids are formed from carbohydrates, furfuryl compounds from pentosans, sulphur- and nitrogen-compounds from amino acids, and of course pyridine from trigonelline. Evidence has however been obtained that phenols and hydrocarbons are formed from chlorogenic acid. JONES and SCHMELTZ (114), working in America on tobacco, have investigated the pyrolysis of caffeic acid, and have identified a number of phenols and hydrocarbons, most of which have been found in coffee aroma (66). KAISER (116) has recently repeated the work of Michael FARADAY, who discovered benzene in the « portable » gas first used for lighting the streets of London. KAISER heated sperm oil under the same conditions used for the manufacture of the gas, and with the use of modern techniques was able to « discover » benzene again (in 10 minutes) and toluene (in 20 minutes) and detected another 300 components or more in the gas. The possible formation of hydrocarbons from carbohydrates and oils in foods has been discussed (115).

Finally I would therefore like to suggest that a profitable line of research would be to separate the main constituents of raw coffee, to pyrolyse them individually in a pre-column, and after fractionation pass the products of combustion into a gas chromatograph and so to a mass spectrograph.

REFERENCES

- SMITH, R. F. — Society of Chemical Industry, London, Reports on the Progress of Applied Chemistry, 1967, **53**, p. 361-371.
- Missão de Estudos agronômicos do Ultramar, Lisboa, Bibliography of Coffee, 1967.
- de AMORIN, H. V. et al. — *An. Esc. Super. Agr. « Luiz Quiroz »*, Univ. S Paulo, 1965, **22**, 139.
- NORTHMORE, J. M. — *Turrialba*, 1968, **18**, 14.
- BURKHARDT, R. — *Angew. Chem., Int. Edn.*, 1967, **6**, 885.
- de AMORIN, H. V. and SILVA, D. M. — *Nature*, Lond., 1968, **219**, 381.
- SHADAKSHARASWAMY, M. and RAMACHANDRA, G. — *Enzymologia*, 1968, **35**, 93.
- SHADAKSHARASWAMY, M. and RAMACHANDRA, G. — *Phytochemistry*, 1968, **7**, 715.
- THALER, H. and ARNETH, W. — *Z. Lebensmittelunters. u.-Forsch.*, 1968, **137**, 26.
- KASSER, I. M. and KASSER, A. — U. S. Patent, 3, 354,141 (21.11.67) ; *Chem. Abstr.*, 1968, **68**, 13986 c.
- PREUSSER, E. — *Biol. Centralbl.*, 1967, **86**, 485.
- PARIS, R. and JACQUEMIN, M. — *Annls. Pharm. Fr.*, 1966, **24**, 741.
- MEICHELBECK, H. and ZAHN, H. — *Z. Naturforsch., B.*, 1968, **23**, 879.
- HARTMAN, L., LAGO, R. C. A., TANGO, J. S. and TEIXEIRA, C. G. — *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1968, **45**, 577.
- HARMS, U. and WURZIGER, J. — *Z. Lebensmittelunters. u.-Forsch.*, 1968, **138**, 75.
- RODRIGUES, J. G., FAHEY, J. E. and FERNANDEZ, C. E. — *J. agric. Fd Chem.*, 1968, **16**, 276.
- LEVI, C. P. and BORKER, E. — *J. Ass. off. analyt. Chem.*, 1968, **51**, 600.
- BECKWITH, A. C. and STOLOFF, L. — *J. Ass. off. analyt. Chem.*, 1968, **51**, 602.
- SCOTT, P. M. — *J. Ass. off. analyt. Chem.*, 1968, **51**, 609.
- THIER, H.-P., BRICOUT, J., VIANI, R., REYMOND, D. and EGLI, R. H. — *Z. Lebensmittelunters. u.-Forsch.*, 1968, **137**, 1.
- PUZZ, D., PEREIRA, H. F., BITRAN, E. A. and CAMPOS, T. B. — *Biológico*, 1968, **34**, (3), 51.
- KROLLER, E. — *Dt. LebensmittRdsch.*, 1968, **64**, 6.
- SOUZA, D. A., PIEDALE, J. R. and YONEDA, H. — *Biológico*, 1968, **34** (3), 63.
- CLARKE, R. J. — *Process Biochem.*, 1967, **2** (10), 15.
- BARBERA, C. E. — *Ind. Agr.*, 1967, **5**, 541.
- *Fd Trade Rev.*, 1967, **37** (3), 52.

27. OLAH, K., BODNAR, J. and GASPAR, G. — *Proc. Conf. Appl. Phys.-Chem. Methods Chem. Analyt.*, Budapest, 1966, **2**, 164 ; *Chem. Abstr.*, 1968, **68**, 53035 a.
28. LÓRÁNT, B. — *Nahrung*, 1968, **12**, 351.
29. DEMSIC, N. — *Kemija Ind.*, 1967, **16**, 469.
30. BARBIROLI, G. — *Quad. Merceol.*, 1966, **5**, 223.
31. KELEMAN-SZILAS, M. — *Nahrung*, 1968, **12**, 17.
32. GRIMMER, G. and HILDEBRANDT, A. — *Dt. LebensmittRdsch.*, 1966, **62**, 19.
33. FRITZ, W. — *Nahrung*, 1968, **12**, 799.
34. EISENBRAND, J. and BECKER, G. — *Dt. LebensmittRdsch.*, 1967, **63**, 139.
35. EISENBRAND, J. and BECKER, G. — *Dt. LebensmittRdsch.*, 1967, **63**, 342.
36. TILGNER, D. J. — *Fd Mf.*, 1968, **43** (6), 37.
37. SOUČI, S. W. — *Dt. LebensmittRdsch.*, 1968, **64**, 235.
38. MAIER, H. G., DIEMAIR, W. and GASSMANN, J. — *Z. Lebensmittelunters. u.-Forsch.*, 1968, **137**, 282.
39. KLÖCKING, R., HOFMANN, R. and MÜCKE, D. — *Z. Lebensmittelunters. u.-Forsch.*, 1967, **135**, 1.
40. AURICH, H., HOFFMANN, R., KLÖCKING, R. and MÜCKE, D. — *Z. Lebensmittelunters. u.-Forsch.*, 1967, **135**, 59.
41. WOLFROM, M. L. and ANDERSON, L. E. — *J. Agr. Fd Chem.*, 1967, **15**, 685.
42. THALER, H. — *Z. Lebensmittelunters. u.-Forsch.*, 1959, **110**, 442.
43. CZOK, G. — *Z. ErnährWiss., Suppl.* Nr. 5, 1966.
44. PSIORZ-STANEK, R. U. — *Schriftenr. Int. Ges. Nahr.-Vitalst.-Forsch. E. V.*, 1965, Nr. 2, S. 64 ; *Chem. Abstr.*, 1967, **66**, 74973 d.
45. MÜHLENS, K. and GRAF-RIEKMANN, L. — *Dt. Lebensmitt. Rdsch.*, 1967, **63**, 177.
46. WURZIGER, J. — *Dt. LebensmittRdsch.*, 1968, **64**, 38.
47. MAIER, H. G. and DIEMAIR, W. — *Z. analyt. Chem.*, 1966, **223**, 263.
48. MEZONET, R., CUSTOT, F. and LASNE, H. — *Annl. Falsif. Expert. chim.*, 1966, **59**, 317.
49. BRANDENBERGER, H. and BADER, H. — *Helv. chim. Acta*, 1967, **50**, 463.
50. — *U. S. Fed. Regist.*, **32**, 12605 (31.8.67) ; *Chem. Abstr.*, 1967, **67**, 98958 z.
51. BARBERA, C. — Italian Patent 649,830 (4.12.62) ; *Chem. Abstr.*, 1968, **68**, 69333 g.
52. BARBERA, C. — Italian Patent 703,474 (7.4.66) ; *Chem. Abstr.*, 1968, **68**, 113500 k.
53. — *Fd Mf.*, 1968, **43** (3), 38.
54. RADTKE, R., MOHR, W. and SPRINGER, R. — *Z. Lebensmittelunters. u.-Forsch.*, 1966, **129**, 349.
55. GAUTSCHI, F., WINTER, M., FLAMENT, I., WILLHALM, B. and STOLL, M. — *J. agric. Fd Chem.*, 1967, **15**, 15.
56. STOLL, M., WINTER, M., GAUTSCHI, F., FLAMENT, I. and WILLHALM, B. — *Helv. chim. Acta*, 1967, **50**, 628.
57. GOLDMAN, I. M., SEIBL, J., FLAMENT, I., GAUTSCHI, F., WINTER, M., WILLHALM, B. and STOLL, M. — *Helv. chim. Acta*, 1967, **50**, 694.
58. BONDAROVITCH, H. A., FRIEDEL, P., KRAMPL, V., RENNER, J. A., SHEPHARD, F. W. and GIANTURCO, M. A. — *J. agric. Fd. Chem.*, 1967, **15**, 1093.
59. STOFFELSMA, J. and PYPKER, J. — *Recl. Trav. chim. Pays-Bas Belg.*, 1968, **87**, 241.
60. STOFFELSMA, J., SIPMA, G., KETTENES, D. K. and PYPKER, J. — *J. agr. Fd. Chem.*, 1968, **16**, 1000.
61. WALTER, W. and WEIDEMANN, H.-L. — *Naturwissenschaften*, 1967, **54**, 492.
62. KUNG, J. T., McNAUGHT, R. P. and YERANSIAN, J. A. — *J. Fd Sci.*, 1967, **32**, 455.
63. MAIER, H. G. and DIEMAIR, W. — *Z. analyt. Chem.*, 1967, **227**, 187.
64. BRODERICK, J. J. — *Am. Perfum. Cosmet.*, 1968, **83** (7), 37.
65. STREULI, H. — *Fortbildungskurs agrikulturchem. Inst. Eidgenöss. tech. Hochsch.*, Zürich, April 1967, Forster-Verlag A.-G., pp. 119-163.
66. WINTER, M., GAUTSCHI, F., FLAMENT, I., WILLHALM, B. and STOLL, M. — *Ibid.*, pp. 165-198.
67. CERMA, E. and PERTOLDI-MARLETTA, G. — *Ann. Fac. Econ., Univ. Studi Messina*, 1966, **4**, 245.
68. POWERS, J. H. and KEITH, E. S. — *J. Fd Sci.*, 1968, **33**, 207.
69. WIENTJES, A. G., MAARSE, H. and Van STRATEN, S. — *Mitt. Geb. Lebensmittelunters. u. Hyg.*, 1967, **58**, 61.
70. BALESTRA, C. — U. S., Patent. 3,335,014 (8.8.67) ; *Chem. Abstr.*, 1967, **67**, 107508 g.
71. NAVELLIER, P. — *Mises Point Chim. Analyt. Org. Pharm. Bromatol.*, 1967, **16**, 95.
72. « Supplement to Official, Standardised and Recommended Methods of Analysis », Ed. S. C. Jolly, Society for Analytical Chemistry, London, 1967, pp. 137-8.
73. McCARRON, E. A. — *J. Ass. off. analyt. Chem.*, 1967, **50**, 835.
74. — *J. Ass. off. analyt. Chem.*, 1968, **51**, 397.
75. STIJVE, T. — *Chem. Tech. Rev.*, 1967, **22**, 107.
76. LEHMANN, G., HAHN, H.-G. and MARTINOD, P. — *Dt. LebensmittRdsch.*, 1967, **63**, 144.
77. LEHMANN, G., HAHN, H.-G. and LUZURIAGA, O. — *Dt. LebensmittRdsch.*, 1967, **63**, 273.
78. GRODZIŃSKA-ZACHWIEJA, Z. and WARCHOT, A. — *J. Chromat.*, 1967, **29**, 362.
79. JURICS, E. W. — *Z. Lebensmittelunters. u.-Forsch.*, 1966, **132**, 193.
80. COLOMBO, E. — *Farmaco, Ed. Pract.*, 1968, **23**, 43.
81. JOHNSON, A. R. — *J. Ass. off. analyt. Chem.*, 1967, **50**, 857.
82. DICK, R. H. — *J. Ass. off. analyt. Chem.*, 1968, **51**, 279.
83. FERREN, W. P. and SHANE, N. A. — *J. Ass. off. analyt. Chem.*, 1968, **51**, 573.
84. d'ORNANO, M. CHASSEVENT, F. and POGNEAUD, S. — *Café Cacao Thé*, 1967, **11**, 14.
85. FAVRETTO, L. and FAVRETTO GABRIELLI, L. — *Rass. Chim.*, 1968, **20**, 111.

86. ADAMSKI, R. and CIESZYUSKI, T. — *Farmacja pol.*, 1966, **22**, 731.
87. FAVRETTO, L. and FAVRETTO GABRIELLI, L. — *Atti del VI Congresso della Qualità*, Genova, Sept. 1967, p. 235.
88. CHIANTELLA, V. and LICASTRO, F. — *Ann. Fac. Econ. Commer., Univ. Studi Messina*, 1966, **4**, 295.
89. SHALAMBERIDZE, Sh. M., GOTSIRIDZE, A. V. and DEKANOSIDZE, G. E. — *Trudy Inst. Farmakokhim., Akad. Nauk. gruzSSR*, Ser. 1, 1967, N° 10, 82 ; *Chem. Abstr.*, 1968, **69**, 56887 m.
90. FRANZKE, C., GRUNERT, K. S., HILDEBRANDT, U. and GRIEHL, H. — *Pharmazie*, 1968, **23**, 502.
91. FRANZKE, C., GRUNERT, K. S., HILDEBRANDT, U. and GRIEHL, H. — *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.*, 1967, **348**, 1725.
92. SENANAYAKE, U. M. and WIJESEKERA, R. O. B. — *J. Chromat.*, 1968, **32**, 75.
93. SZASZ, G., SZASZ, M. and POLANHAZ, V. — *Acta. pharm. hung.*, 1965, **35**, 207 ; *Analyt. Abstr.*, 1967, **14**, 354.
94. GORBACH, G. — *Nahrung*, 1968, **12**, 859.
95. KAGITICI, M. A. — *Fette Seifen AnstrMittel*, 1968, **70**, 73.
96. FOSCHINI, A. and USAI, A. — *Rass. Chim.*, 1968, **20**, 147.
97. RODRIGUEZ, D. B., FRANK, H. A. and YAMAMOTO H. Y. — *J. Sci. Fd Agric.*, 1969, **20**, 15.
98. CAREW, jun., L. B., ALVAREZ, H. and MARIN, O. M. — *Poult. Sci.*, 1967, **46**, 930, *J. Sci. Fd Agric.*, 1968, **19**, i-261.
99. NATARAJAN, C. P. and RAO, N. G. — *Indian Coffee*, 1968, **32**, 25 ; *J. Sci. Fd Agric.*, 1969, **20**, i-50.
100. SCARPATI, M. L. and ESPOSTITO, P. — *Tetrahedron Lett.*, 1963, N° 18, 1147 ; *Annali Chim.*, 1964, **54**, 35.
101. SCARPATI, M. L. and GUIISO, M. — *Tetrahedron Lett.*, 1964, N° 39, 2851.
102. HASLAM, E., MAKINSON, G. K., NAUMANN, M. O. and CUNNINGHAM, J. — *J. chem. Soc.*, 1964, 2137.
103. CORSE, J., LUNDIN, R. E. and WAISS, jun., A. C. — *Phytochemistry*, 1965, **4**, 527.
104. WOLFROM, M. L., LAVER, M. L. and PATIN, D. L. — *J. org. Chem.*, 1961, **26**, 4533.
105. WOLFROM, M. L. and PATIN, D. L. — *J. agric. Fd Chem.*, 1964, **12**, 376.
106. KHAN, N. A. and BROWN, J. B. — *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1953, **30**, 606.
107. RAISCH, M. and BECKER, G. — *Dt. Lebensmittel-Rdsch.*, 1964, **60**, 151.
108. DJERASSI, C., CAIS, M. and MITSCHER, L. A. — *J. Am. Chem. Soc.*, 1959, **81**, 2386.
109. FINNEGAN, R. A. and DJERASSI, C. — *J. Am. Chem. Soc.*, 1960, **82**, 4342.
110. HAWARTH, R. D., JUBB, A. H. and MCKENNA, J. — *Chem. Ind.*, 1954, 104.
111. HAWARTH, R. D. and JOHNSON, R. A. W. — *Chem. Ind.*, 1956, 168.
112. ROHAN, T. A. and STEWART, T. — *J. Fd Sci.*, 1967, **32**, 399.
113. ROHAN, T. A. — *J. Fd Sci.*, 1967, **32**, 402.
114. JONES, T. C. and SCHMELTZ, I. — *Chem. Ind.*, 1968, 1408.
115. JOHNSON, A. E., NURSTEN, H. E. and SELF, R. — *Chem. Ind.*, 1969, 10.
116. KAISER, R. — *Angew. Chem., Int. Edn.*, 1968, **7**, 345.
117. THALER, H. and ARNETH, W. — *Z. Lebensmittel-unters. u.-Forsch.*, 1968, **138**, 137.
118. BRANDENBERGER, H., HAHN, H.-G., LEHMANN, G., NEUMANN, W. and NEUNHOEFFER, O. — *Z. Lebensmittelunters. u.-Forsch.*, 1969, **139**, 211.
119. NORTHMORE, J. M. — *Kenya Coffee*, 1968, **33**, 131 ; 1969, **34**, 26.
120. SHADAKARASWAMY, M. and RAMACHANDRA, G. — *Curr. Sci.*, 1968, **37**, 583.
121. EISENBRAND, J. and BECKER, G. — *Z. Analyt. Chem.*, 1968, **242**, 145.
122. ZWAVING, J. H. and DIKHOFF, J. H. W. — *Pharm. Weekbl. Ned.*, 1968, **103**, 1309.
123. JENO, B. — *Ann. Falsif. Expert. Chim.*, 1966, **59**, 119.
124. VAN BENEDEEN, P., DEFOSSE, C. and VAN BENEDEEN, G. — *J. Pharm. Belg.*, 1968, **23**, 381.

SMITH (R. F.). — **Etat actuel des connaissances sur la chimie du café.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 41-46, fig., réf.

L'auteur passe en revue les études sur la chimie du café qui ont été publiées au cours des deux dernières années et fait un rapide tableau de l'état actuel des connaissances sur la composition du café vert et du café torréfié et sur les changements qui se produisent au cours de la torréfaction. La bibliographie citée comporte 124 références.

SMITH (R. F.). — **Recent advances in the chemistry of coffee. A review.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 41-46, fig., réf.

Publications on the chemistry of coffee during the last two years are reviewed and a brief account is given of the present state of the knowledge on the composition of raw and roast coffee and on the changes taking place during roasting.

The bibliography includes 124 references.

SMITH (R. F.). — **Gegenwärtiger Stand der Kenntnisse über die Chemie des Kaffees.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 41-46, fig., réf.

Der Autor gibt eine Übersicht der Arbeiten über die Chemie des Kaffees die während der zwei letzten Jahre veröffentlicht wurden und entwirft ein rasches Bild des gegenwärtigen Standes der Kenntnisse über die Zusammensetzung des Roh- und des Röstkaffees und über die Veränderungen die sich im Verlauf des Röstprozesses vollziehen. Das angeführte Schrifttum umfasst 124 Referenzen.

« OVER FERMENTED » BEANS AND « STINKERS » AS DEFECTIVES OF ARABICA COFFEE

J. M. NORTHMORE

Coffee Research Station, Ruiru, Kenya

The defective raw beans called « over fermented » beans in Central America and « stinkers » elsewhere, have been known to coffee producers and buyers for very many years. In Kenya, where they are known as stinkers, they have never been considered a serious problem. However, towards the end of 1967 reports began to arrive from overseas buyers complaining of the presence of stinkers in some batches of coffee shipped to Europe. Since Kenya coffee is one of the world's top quality coffees, these complaints were considered serious enough to warrant an immediate programme of investigation into the incidence and sources of these stinkers. This paper presents the results of the investigation to date.

The raw bean

In a short treatise (1), probably published during the nineteen thirties, « stinkers » are described as « beans which are yellowish brown in colour and which, when cut by a knife, are brittle and give off a bad smell ».

Another published reference to this type of defective coffee bean states that the raw bean is pale coloured and waxy looking and has a missing embryo (2). In Kenya in 1955, it was also reported that beans with dead, blackish-brown and shrivelled embryos had produced stinkers (3). A small pit had developed at the end of the bean opposite the embryo radicle (fig. 1).

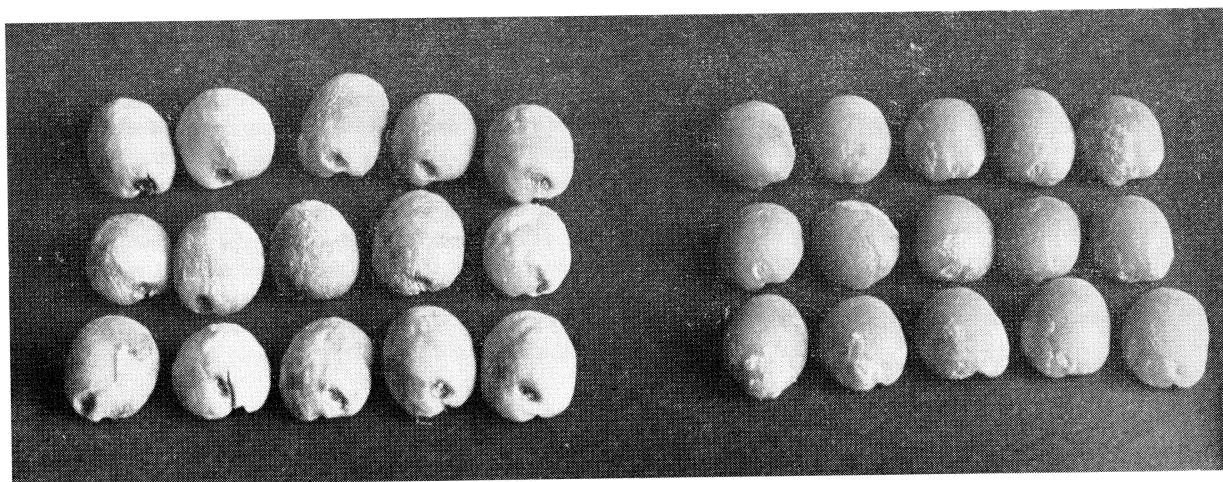
During this investigation it was found that the raw bean appearance of stinkers varied considerably. Some were greenish or greenish-yellow in colour and they



did not have missing embryos. Others were yellow or yellowish-white, waxy in appearance and very often had greater or lesser areas of adhering, dark brown silver skins. This latter type very often, but not always, had a missing embryo. A small pit and distinct black spot usually marked the site of the missing embryo.

Stinkers were often found to be brittle, but this was not an invariable characteristic. Furthermore, a brittle bean is not necessarily a stinker.

Fig. 1



Vapours given off by the raw bean

The vapours given off by the crushed raw bean were investigated. It was found that they had a distinctive heavy, sweet odour similar to that given off by a heap of rotting coffee skins or rotting fruit.

It was further found that these vapours were acidic in character and were continually emitted from the raw bean, even after six months' storage.

Moist blue litmus paper turns a distinct red colour at its lower edge within one hour when suspended over approximately one gram of ground sample from a typical bad stinker. In less severe cases visible reddening of the litmus paper is only discernible after several hours. This reaction may be used as a simple test for the presence of stinkers since it appears to be fairly specific. Other types of raw beans which have been tested and found to give no reaction to the litmus paper test include normal beans, hail damaged beans, ambers, pulper nipped and Antestia damaged beans.

The acidic vapours emitted from approximately one kilogram of ground raw stinkers were removed by a current of air and absorbed in a solution of 0.1 N sodium hydroxide. After acidification and extraction with ether, about 1 ml of a water solution was obtained. This was then treated with ammonium hydroxide solution and spotted on chromatographic paper. Development with *n*-butyl alcohol saturated with 1.5 N ammonium hydroxide solution gave a single spot corresponding to acetic acid.

The roasted bean

During this investigation an examination was made of the roasts obtained from many samples of stinkers. In

all cases it was found that, after roasting, there was no apparent difference in the appearance of these defectives and that of a sample of roasted normal beans. In particular, yellowish-white stinkers mixed with normal beans in various proportions, did not give any « pales » in the roast. However, it was observed that the roasted mixture when ground usually gave off an unpleasant odour. In severe cases this odour could be detected in the coffee liquor.

The liquor

Liquors made from bean samples containing stinkers are described as having flavours which vary from « tainted » to « unclean » and then through « fermented » to « foul ». In Kenya, a « sour » flavour is sometimes used to describe a mild « fermented » flavour whilst « fruity » is a term that is sometimes used to indicate a stage of « sourness » (4). « Pulpy » is another term in use that has connections with « fermented » flavours.

During this investigation it was found that a slightly unclean flavour was not particularly unpleasant but that the foul tasting liquors could be almost undrinkable. In the laboratory it was found that when some stinkers which gave foul liquors were mixed with normal good quality Kenya coffee, they did not give liquors with easily detectable taints below a level of approximately 25 per cent of stinkers in the mixture. However, it is the expressed opinion of some coffee buyers that an otherwise clean coffee liquor can be tainted by the presence of only a single stinker (5).

ORIGIN OF OVER-FERMENTED BEANS AND STINKERS

According to HARRER, unclean liquors in Arabica coffee are derived from beans subjected to bad processing, storage or transport, while foul taints arise through the use of polluted water (6). More specifically, the traditional view is that stinkers are obtained from beans left behind in fermenting tanks or washing channels (1). These beans are said to undergo a second or even a third fermentation, presumably when they are mixed with succeeding batches of freshly pulped coffee. Such beans are said to become rotten and produce stinkers.

Since the fermentation process is simply the removal of mucilage from the parchment coffee, there cannot be subsequent fermentations once this is accomplished and the beans left behind in fermentation tanks or channels can only undergo a series of wetting and drying operations. However, some experiments which were carried out to ascertain if stinkers could be produced by the repeated wetting and drying of normal coffee beans gave negative results and it was concluded that

other factors must be responsible (7). It was assumed that these other factors included attack by micro-organisms. Accordingly, an experiment was set up to ascertain the effects of fungal attack on freshly pulped coffee beans.

The beans, with parchment and silverskin removed, were inoculated with fungi that had been grown on some typical stinkers. The inoculated beans were then left in a moist environment surrounded by freshly pulped mucilage covered beans. After ten days, during which the exposed beans became covered with a strong growth of fungus, they were washed thoroughly and sun dried. It was then found that the beans had suffered heavy physical damage producing, in the extreme case, some shrivelled black beans but that typical stinkers had not been produced. After storage of several weeks a few of the beans resembled stinkers in appearance in that they were yellowish in colour and brittle. They were obviously dead beans.

The concept of a stinker being a dead bean was further investigated by planting about 50 typical stinkers in moist, washed sand. In every case, after a period of approximately two weeks, the planted bean was found to be rotten. This was taken as a confirmation of the concept that stinkers are composed of dead tissue (8).

Application of heat to freshly fermented coffee beans

An attempt was then made to produce stinkers by killing normal freshly fermented coffee beans through the application of heat. This attempt was immediately successful. Not only were defective beans obtained by the application of relatively low temperatures but also, at higher temperatures, typical stinkers, complete with missing embryos and a black spot at the embryo site, were obtained. These latter also gave a positive litmus paper reaction. It was found that a time and temperature relationship applied when producing these defective beans and some of the results obtained are given in table 1.

Application of heat to « black stage » coffee beans

All the beans used in the experiment set out in table 1 were « white stage » coffee beans. These are beans that have not yet been dried to a moisture content of less than approximately 40 %. On further drying below this moisture content level, coffee beans enter the « black

stage ». This is a transition stage during which the bean tissue changes its opaque appearance and becomes semi-transparent. In this condition, on casual inspection, the bean appears to be black. On further drying to a moisture content of about 20 %, the bean tissue reverts once more to an opaque appearance and then begins to resemble the fully processed raw coffee bean of commerce.

An experiment was carried out to ascertain if the effect of heat treatment on black stage beans resembled that on white stage beans. The results obtained are given in table 2, p. 50.

It will be seen from these results that it is much more difficult to produce stinkers by heating black stage beans. In fact, when a raw coffee bean has been dried to the black stage it may normally be considered to have reached a safe stage.

It can now be seen that the major part of the problem of stinkers has been narrowed down to the overheating of white stage coffee beans.

The final point to be investigated is therefore where, during processing, can this overheating occur.

Fermentation

The first stage of processing that is suspect, is the fermentation stage. Measurements of temperatures achieved during this stage under various conditions showed that the maximum temperatures obtained were of the order of 30° C, usually where re-circulation of pulping water was practised. Nevertheless, in one experiment where freshly pulped coffee beans were enclosed in a vacuum flask and left to ferment undistur-

TABLE I

Effects of time and temperature treatments on freshly fermented coffee beans

Sample n°	Time of heating	Temperature °C	Raw bean appearance	Odour when crushed	Liquor flavour	Type of bean produced
1	5 days	30	Grey Green. Odd pale	Normal	Untainted	
2	5 days	35	Grey Green. Several pales	Normal	Untainted	
3	3 days	40	Brown Grey Green. Many pales	Normal	Untainted	
4	5 days	40	Brown Green. Many pales	Normal	Untainted	
5	47 hours	43	Green Yellow	Normal	Sl. tainted	Weak defective
6	24 hours	48	Green	Normal	Untainted	
7	48 hours	48	Green	Sl. fermented	Tainted	Stinkers
8	6 hours	54	Green	Normal	Untainted	
9	8 hours	54	Green	Sl. fermented	Tainted	Stinkers
10	5 days	55	Brown Green. Several brown beans with missing embryos	Fermented	Tainted	Stinkers
11	1 hour	59-60	Green	Normal	Sl. tainted	Weak defective
12	17 hours	59-60	Yellow White. Several beans with missing embryos	Fermented		Stinkers

TABLE 2
Effects of heating white and black stage beans at temperatures of 51-55 °C

Sample n ^o	Initial stage of dryness	Time of heating	Temperature °C	Raw bean appearance	Odour when crushed	Liquor flavour	Type of bean produced
1	White stage	4 hours	53	Grey Green	Normal	Sl. unclean	Weak defective
2	Black stage	4 hours	51	Grey Blue	Normal	Untainted	
3	White stage	6 hours	53	Grey Green	Normal	Unclean	Weak defective
4	Black stage	6 hours	52	Grey Blue	Normal	Untainted	
5	White stage	8 hours	53	Grey Green	Normal	Sl. unclean	Weak defective
6	Black stage	8 hours	52	Grey Green	Normal	Untainted	
7	White stage	24 hours	53-54	Green Yellow	Fermented	Foul	Stinkers
8	Black stage	24 hours	55	Grey Green	Normal	Sl. unclean	Weak defective
9	Control sample			Grey Blue	Normal	Untainted	

bed for five days, stinkers were produced. Coffee beans left for three and a half days under identical conditions did not produce stinkers.

Soaking stage

In Kenya, the fermentation stage, after washing, is normally followed by an overnight soaking stage, under water or under a one per cent solution of sodium metabisulphite. It is assumed to be extremely unlikely that high temperatures would occur during this stage and throughout this investigation no evidence was obtained to disprove this assumption.

Skin drying

After soaking, the wet parchment coffee is skin dried as quickly as possible. In Kenya, when conditions allow, the beans are skin dried in the sun or on raised tables. Very often, however, drying is carried out by machines, usually over a period of 24 hours. Temperatures used are normally only a few degrees centigrade above ambient. However, on one occasion during a visit to a coffee estate where a skin drier was in use a temperature of 51° C was measured. The farmer stated that the skin drier was on this one occasion being used to dry the beans to completion. Normally, wet parchment coffee is unlikely to heat up until after it is skin dried. After that, however, the beans can heat up very quickly and skin driers used in this way must be carefully controlled to avoid the production of stinkers.

Drying tables

After skin drying the coffee, still in the white stage, is usually left on raised tables to dry in the sun.

Temperatures encountered during this process can sometimes reach 50° C and it is necessary to take precautions to avoid overheating (9). However, a potentially more dangerous situation can arise during periods of intermittent rain and bright sunshine.

Under these conditions it is usual to place a waterproof covering over the coffee on the tables. Very often, during prolonged showery weather, these coverings may remain undisturbed for one or two weeks. This cannot be considered harmful if there is free circulation of air.

Unfortunately, in recent years for reasons of economy it has become a common practice to use polythene sheets as waterproof coverings.

Tests carried out during the short rains of November 1968 beneath polythene covers during periods of intermittent rain and bright sunshine showed that temperatures of between 40° C and 50° C were easily obtained (10). Over a period of time these temperatures could obviously lead to the overheating of white stage coffee with the consequent danger of the production of stinkers.

Storage of white stage coffee

Under normal conditions, white stage coffee probably remains in the white stage for less than one week during which time it is freely ventilated.

However, when the weather is wet and cloudy for long periods, drying can be considerably delayed. Furthermore, if poor drying weather coincides with a large flush of ripe coffee, as happened during 1968, drying tables can become overloaded and white stage coffee must be stored until there is more room on the tables. Very often it is stored in bulk in conditioning bins or on a wooden floor. Sometimes it is put into sacks which are then placed in a store. In either case it may be stored for three to five weeks without adequate

ventilation before it is finally removed to the drying tables.

It is thought by many farmers and others that white stage coffee in bulk can heat up if it is not fully ventilated. This reaction is similar to the heating up of wet hay in a haystack. Under conditions where this overheating is likely to occur, stinkers may easily be produced.

On a visit to a coffee estate during 1968, some coffee was examined that had been stored in sacks in the white stage and left undisturbed in a pile for three weeks. The coffee was musty and full of stinkers. Nowhere else on the estate were any stinkers found although many tons of coffee were in various stages of processing.

On a neighbouring estate, white stage coffee that had been bulked on a wooden floor for three weeks with regular daily turning was found to be free of stinkers. It was, however, slightly musty. The mustiness disappeared after sun drying but the liquor was eventually described as coarse and lacking in acidity.

In an experiment carried out at the Coffee Research Station, Ruiru, two sacks of white stage coffee were left undisturbed on the stone floor of a store for six weeks. At the end of this period most of the coffee was still in the white stage although a few beans had dried to the black stage. It smelled very musty and there was evidence of sooty moulds on much of the parchment. Many beans were stained a bright yellow and some were stained red. These stains were probably of a chemical origin and produced by outward diffusion of polyphenols. Many beans had sprouted. The liquor obtained from this coffee was much coarser than that obtained from a control sample but it was described as being only slightly tainted.

The liquorer considered that many of the raw beans looked like stinkers, being pale and waxy in appearance. However, they did not have an abnormal odour when crushed and they had no black spots at the embryo sites. They could not be described as typical stinkers.

DISCUSSION

Definitions

ILLY and RUZZIER, in a paper presented at the Third International Colloquium on the Chemistry of Coffee at Trieste (11) gave a very detailed description of the defective bean called « fève cireuse » or waxy bean. They indicated that there were several resemblances to stinkers and sour beans and suggested that an overall term be adopted to embrace all these defective beans.

Although it is curious that ILLY and RUZZIER did not mention the black spot at the embryo site, it is obvious that some of the bad stinkers encountered during the present investigation were identical to waxy beans. The proposal that they should be grouped under one main heading is supported therefore and it is suggested that this heading should be « over fermented beans » since this is a term that is already in use.

From the varied descriptions given of the raw appearance of both waxy beans and stinkers, it is clear that the raw appearance alone cannot be used to define over fermented beans. Neither can a definition be based upon the odour given off by the crushed raw bean since, during this investigation, some beans were obtained which did not give a bad odour when crushed but nevertheless, gave a slightly unclean taint to the liquor.

A definition of an over fermented bean can therefore only be given in terms of the single characteristic that is common to all of these defective beans, that is the taint imparted to the coffee liquor. It may now be defined as follows :

« An over-fermented bean is one that will impart an unclean, fermented or foul taint to a coffee liquor. »

Other types of defectives can now be described in terms of their specific characteristics. A stinker, for example, becomes « a severe type of over-fermented bean characterised by the typical unpleasant odour given off by the crushed raw bean » and a waxy bean could be described as « an over-fermented bean of waxy appearance ».

Other defective beans that may be considered to fall within this class may be discoloured beans or pulper nipped beans where it can be shown that they impart the required objectionable taint to a coffee liquor (5).

Over-fermented beans a processing problem

It has been indicated in this paper that all grades of over fermented beans have been produced in the laboratory by the application of heat to « white stage » coffee beans for varying periods of time. It has also been shown that « black stage » beans are much more difficult to spoil.

These discoveries make the problem of reducing the incidence of over fermented beans much easier. In the first place, it strengthens the assumption that over fermented beans are produced by processing faults and are not a cultural problem (10). Processing faults are, of course, much easier to control.

In Kenya, the estates owned by the Socfinaf Company Ltd., the largest coffee estate owning company in the country, produced 3,432 metric tons of clean coffee during the period March 1968 to March 1969. From this amount only two and a half per cent was classified by the Kenya Coffee Marketing Board as being sufficiently sub-standard to be placed in the penalty classes. This

figure compares very favourably with a country wide average of 8 to 9 %. This was a very fine achievement and reflects great credit upon the Company's management and staff.

According to the general manager of the Socfinaf Company, this result was due, in the first place, to the great care taken during processing. Secondly, when some of the lower grades of coffee were unavoidably neglected because of extremely adverse weather conditions, these coffees, after drying, were hulled and care-

fully inspected by an expert liquorer. Then, if necessary, they were hand picked to remove all « ambers », « blacks » and seriously defective beans (12).

The results obtained show that it is not beyond the bounds of possibility to practically eliminate very poor grades of coffee from Kenya's coffee before export. Elsewhere in Kenya, over the same period of time, it is estimated that farmers suffered losses amounting to more than £ 100,000 following a loss of quality due to the incidence of stinkers.

SOURCES OF POSSIBLE OVER-HEATING OF WHITE STAGE COFFEE BEANS

Fermentation

The results obtained during this investigation have indicated that the critical temperature for over-heating is approximately 45° C. Notwithstanding this, stinkers were produced when freshly pulped coffee was allowed to ferment undisturbed for five days during which time the maximum temperature measured was 30° C.

It appears, therefore, that when over fermented beans and stinkers are produced in the fermentation tanks or washing channels, factors other than simple over-heating must apply. One of these factors must obviously be attack by micro-organisms, especially during over long fermentations.

According to WILBAUX (13), the risk of producing stinkers, which he described as « dead beans which are commencing to decompose », is all the greater when the fermentation process is prolonged since this produces an increase in the micro-flora in the fermentation tank.

WELLMAN (14) suggests that during fermentation microorganic activity can pass beyond lactic acid fermentation to the extent that butyric ferments occur, decaying oils and giving rise to sour cup flavours.

It is of interest to note that butyric acid was not detected in the acidic vapours given off by crushed stinkers.

Re-circulation of pulping water must also have an effect since re-circulated water is full of sugars from the pulped coffee and therefore an ideal medium for the proliferation of micro-organisms. A somewhat similar situation exists if the fermenting coffee is mixed with a large number of coffee skins.

It has been indicated that attack by fungi produced a bean resembling a stinker insofar as the bean appeared to have been killed by what was probably a combination of physical damage and the fungal attack. This would indicate that over fermented beans produced in washing channels and fermentation tanks probably follow the destruction of living bean tissue by micro-biological action. Pulper damaged beans and beans stripped of parchment during pulping must be particularly susceptible to this type of attack (7).

Over-heating of white stage coffee

Overheating in skin driers has been mentioned as a possible source of over fermented beans. Certainly, if temperatures of 50-55° C occur in skin driers stinkers could be produced in a few hours. However, probably the main source of stinkers, especially the bad, yellowish-white, waxy type of bean which gives a very unclean or foul liquor, is from the self heating of white stage coffee.

It is true that, as yet, there is no experimental proof that white stage coffee will, in fact, self heat this way and the investigation of this possibility is a very important part of a future research programme. However, there is a large amount of circumstantial evidence that gives support to this view. In particular, the results of a questionnaire sent out to over 80 farmers and co-operative society managers who had sent in coffee outturns badly contaminated with stinkers, have indicated that this could be the main source of these defectives.

Over-heating can presumably occur in stores, in poorly ventilated conditioning bins or simply in heaps of white stage coffee — usually seconds — left neglected on barbecues. It may also occur under polythene covers on drying tables as has been previously indicated. In fact it may occur anywhere where white stage coffee is heaped up and left unturned or inadequately ventilated.

Fortunately, this situation may be avoided once the farmer or factory manager is made aware of the dangers, as the record of the Socfinaf Company clearly shows.

Ironically, sometime after the conclusions stated above were arrived at, the following extract was found in the annual report for 1935/6 of the Biochemist to the Coffee Board of Kenya (15) :

« Certain reports of « unclean liquors » have been found to be associated with cases where coffee, after partial drying, has been bulked in sheds or bags while the process is still short of completion... the practice is a fairly common one ... the point has yet to be definitely settled ... »

Shortly after this report appeared the research programme of the Biochemist was discontinued at the instigation of the Kenya coffee planters on grounds of economy.

Accepting that the planters who pressed for this action acted in all good faith, nevertheless it appears from this distance, over thirty years later, that they did themselves and the Kenya coffee industry a great disservice.

Losses amounting to many hundreds of thousands of pounds very probably could have been avoided.

Unfortunately, this is an all too common story and the obsession with making short term economies to the near exclusion of all planning for the future is just as strongly evident in Kenya today as it was thirty years ago.

Perhaps one of the reasons for this policy is the lack of publicity given to many of the results of research programmes. Certainly the Biochemist's report referred to

above was buried deep in an obscure journal and was probably promptly forgotten as soon as it appeared! If that is the case, it is sincerely hoped that this paper will make a rather stronger impact, preferably on the present generation of Kenya coffee farmers rather than waiting for a future generation thirty years hence.

ACKNOWLEDGEMENTS

Grateful thanks are due to Messrs. C. R. Devonshire and W. G. Dyer of the Kenya Coffee Marketing Board J. G. Lydall of Cetco Ltd. and Mrs E. Dorman of C. Dorman Ltd. for their valuable advice and expert liquoring assistance which was freely given throughout the whole course of this investigation. Thanks are also due to Mr. M. Huas of Socfinaf Co. Ltd. for permission to quote from the company's records.

REFERENCES

- GILLIAT, JOHN K. and Co. Ltd. — Coffee Preparation. (A short treatise probably issued during the nineteen thirties).
- MENCHÚ, J. F. (1966). — La determinación de la caldidad del Café. Boletín nº 8. Asociación Nacional del Café, Departamento de Asuntos Agrícolas, Guatemala.
- RAYNER, R. W. (1955). — Report of the Plant Pathologist and Physiologist, Coffee Services, Dept. of Agric., Kenya, Ann. Rep. Vol. 2, p. 100.
- DEVONSHIRE, C. R. (1956). — Explanation of the coffee report form. *Mon. Bull. Coffee Bd., Kenya*, 21, 186.
- LYDALL, J. G. (Private communication).
- HARRER, A. E. (1956). — Modern Coffee Production, p. 269.
- NORTHMORE, J. M. (1968). — Stinkers. A preliminary investigation. *Ken. Coff.*, 33, 387, 131.
- ROELOFSEN, P. A. (1939). — *Archief voor de Koffie-cultuur in Nederlandsch Indie*, 13.
- WOOTTON, A. E., VERKADE, F. A. and MITCHELL, H. W. (1968). — The sun drying of Arabica coffee. *Ken. Coff.* 33, 391, 261.
- NORTHMORE, J. M. (1969). — Stinkers (over fermented beans). II *Ken. Coff.*, 34, 396, 26.
- ILLY, E., RUZZIER, L. (1967). — Proposition d'un nouveau système d'évaluation gravimétrique des défauts du café vert. Association Scientifique Internationale du Café, 3^e Colloque International sur la Chimie des Cafés, Trieste.
- TURNER, D. (1969). — (Private communication).
- WILBAUX, R. (1956). — Technologie du Café. Publication de la Direction de l'Agriculture des forêts et de l'Élevage, Bruxelles, p. 76.
- WELLMAN, F. L. (1961). — *Coffee*, p. 380.
- CASE, E. MARTIN (1936). — Report of the Biochemist. The Coffee Board of Kenya Ann. Rep.

NORTHMORE (J. M.). — **Fèves trop fermentées et fèves puantes, défauts du café Arabica.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 47-54, fig., tabl., réf.

Les grains de café Arabica défectueux, connus sous le nom de fèves trop fermentées ou de fèves puantes, ont été étudiés au Kenya. Mélangés à des grains normaux, ils confèrent à la boisson un goût « malpropre », « fermenté » ou « infect ».

NORTHMORE (J. M.). — « **Over-fermented** » beans and « **stinkers** » as defectives of Arabica coffee. Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 47-54, fig., tabl., réf.

Defective Arabica coffee beans known as « over fermented » beans or « stinkers » have been studied in Kenya. Mixed with normal beans they will impart an « unclean », « fermented » or « foul » taint to a coffee liquor.

NORTHMORE (J. M.). — **Überfermentierte Bohnen und stinkende Bohnen, Fehler des Arabica Kaffees.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 47-54, fig., tabl., réf.

Die unter der Bezeichnung überfermentierte Bohnen oder stinkende Bohnen bekannten fehlerhaften Bohnen des Arabica Kaffees wurden in Kenya untersucht. Mit normalen Bohnen vermischt verleihen sie dem Getränk einen « unreinen » fermentierten oder « widerlichen » Geschmack.

Ces fèves ne peuvent être définies que par le mauvais goût qu'elles donnent à la boisson, car leur aspect extérieur est très variable.

On a pu conclure qu'elles se produisaient au cours du traitement du café et qu'elles n'avaient donc pas d'origine culturale.

Au laboratoire, on produit tous les types de fèves surfermentées en chauffant entre 43° C et 60° C les grains de café au stade « blanc » (premier stade de séchage).

A l'usine, les grains trop fermentés proviennent vraisemblablement de l'échauffement qui se produit dans les tas de café au stade « blanc », en attendant le séchage jusqu'au stade « noir ». Ceci reste néanmoins à prouver.

Les bacs de fermentation et les tables de séchage peuvent être aussi à l'origine de la formation de fèves trop fermentées, lorsque les fèves normales y sont soumises à des conditions particulières.

It was found that these beans could only be defined by the taint imparted to the coffee liquor, since the raw appearance varied greatly.

It was concluded that they are produced during the processing of coffee and are not, therefore, a product of cultural conditions.

In the laboratory all grades of over fermented beans were produced by heating « white stage » coffee beans to temperatures between 43° C and 60° C.

In the coffee factory the main cause of over fermented beans is probably the self heating of white stage coffee stored in bulk before drying to the « black stage ». This remains to be proved.

Other sources of over fermented beans are likely to be fermentation tanks and drying tables when normal beans are subjected to specified conditions.

Diese Bohnen können nur durch den üblen Geschmack den sie dem Getränk verleihen gekennzeichnet werden, da ihr Aussehen sehr veränderlich ist.

Man kann daraus schliessen, dass sie sich während der Behandlung des Kaffees bilden und demnach nicht von der Anbauperiode herrühren.

Im Laboratorium wurden alle Arten von überfermentierten Bohnen erzeugt indem man die Kaffeebohnen im « weissen » Stadium (erstes Trocknungsstadium) auf 43 bis 60° erhitzte.

Im Industriebetrieb rühren die überfermentierten Bohnen vermutlich von der Erwärmung her, die sich bei dem angehäuften Kaffee im « weissen » Stadium bildet, bis sich die Trocknung und der Übergang zum « schwarzen » Stadium vollzieht. Dies bleibt jedoch noch zu beweisen.

Die Fermentationskästen und Trockengestelle können ebenfalls Anlass zur Bildung von überfermentierten Bohnen geben, falls die normalen Bohnen darin besonderen Bedingungen unterworfen werden.

DISCUSSION

La discussion à laquelle l'exposé de M. NORTHMORE a donné lieu n'ayant pas été enregistrée sur bande magnétique, il ne nous est pas possible de la reproduire ici.

Nous signalons trois interventions qui avaient été rédigées par leurs auteurs :

M. COSTE : J'ai été très intéressé par l'exposé de M. Northmore sur l'origine des fèves dites puantes. Nous avons ce même problème dans certains lots de café Arabica au Cameroun. Peut-être pourrions-nous unir nos efforts avec ceux de M. Northmore pour ces recherches, en créant un Groupe de Travail. C'est la suggestion que je fais à l'auteur de cette communication.

M. WILBAUX : 1) Comment peut-on expliquer que le séchage mécanique de café en parche préséché, mais au stade dit « white stage », ne produise pas de « stinkers », même si on le soumet à un courant d'air chaud à 80° C puis à 60° C.

2) Dans les fèves torréfiées dites « pâles » nous avons trouvé une grande proportion (20 % environ) de fèves qui, à la coupe, dégagent une mauvaise odeur, allant jusqu'à l'odeur puante.

3) Je crois qu'en fait, en parlant de « stinkers », l'auteur et moi-même ne parlons pas le même langage. Je pense que la définition de la fève « puante » devrait être repensée et plus exactement spécifiée.

M. AMORIM : I would like to comment on Mr. Northmore's paper. As Mr. Northmore and Mr. Wilbaux pointed out, it is very difficult to discuss about stinkers if we do not see the raw coffee and touch it. In Brazil, as far as I could observe on the slide shown by Mr. Northmore, we have some raw coffee that looks like this one studied by Mr. Northmore. As far as liquoring tests are concerned we had no observation that this coffee is poorer than the others. However some liquoring people think that this coffee is sweeter. By chance, when we were investigating the activity of polyphenoloxidase in arabica coffee, we observed a very low activity in such coffee. It is possible that some sugars may have a depressing effect on the activity of polyphenoloxidase. We intend to follow this out, using a great quantity of samples.

THE ROLE OF MOISTURE IN COFFEE DURING STORAGE

N. GOPALAKRISHNA RAO, A. BALACHANDRAN, C. P. NATARAJAN

Central Food Technological Research Institute, Mysore (India)

The subject of fixing suitable and optimum moisture limits in cured coffee based on scientific data, is important in the interest of both the producer and the consumer. This will vary with the climatic conditions especially humidity, temperature and time. Various studies on the different aspects of storage of coffee have been carried out at the Institute and reported earlier (1, 2, 3, 4, 5). These studies established that wet-processed coffee, if allowed to pick up moisture above 10 %, will show definite changes in appearance depending upon the time and temperature at which it is stored under the influence of high humidity. Even though changes in appearance will be readily noticeable in the case of wet-processed coffee, they will not be so in unwashed coffee, since the colour of unwashed coffee

is already affected during drying. The figures quoted for optimum moisture level for coffee in the literature vary widely and often recommendations are being made on the basis of the highest moisture content reported. A figure of 12 % in cured coffee has also been recommended. Our earlier studies have indicated that optimum moisture should be based on climatic conditions, types of storage, temperature and period during which coffee should be stored. With high humidity and high temperature, the appearance is affected faster than with low temperature and low humidity. Systematic data have been obtained by us by storing lots of about 10 tons in a dry place as well as in a high humidity place. This note reports the observations made.

MATERIALS AND METHODS

Raw materials

The trials were carried out using 10 ton lots of both Arabica and Robusta cherry coffee of 1965/66 season with different initial moistures. For storage, one dry place, Salem, and another of monsoon influence, Telli-cherry, were selected. The coffee was stored in 60 kg double B-twin gunny bags and were stacked 6-8 ft high at both the places.

Sampling procedures

Samples were drawn according to random sampling methods as evolved on statistical basis at periodical intervals.

Analytical methods

Moisture was determined by the oven method by drying 10 g coffee seeds in air-oven at a temperature

of $100^{\circ} \pm 5^{\circ}$ C for 6 hours and reporting the percentage loss in drying as moisture. Colour was determined in the samples received by us from the Curing Works using Photovolt Reflection Meter, Model 610, using 610-Y-search unit and tristimulus green filter and the percentage reflectance expressed as Y-value. Weight-volume ratio was determined by displacement of water by weighed quantity of coffee in a measuring cylinder for the initial and final set of samples. Bushel weight was determined by measuring the Forlit weight of the initial and final samples.

Experimental period

The storage trials lasted for a period of one year at both the places.

The average of three figures for percentage moisture as determined by the oven method and colour of the top, middle and bottom layer samples, are given in Table I, p. 56.

TABLE I

Storage experiments on raw coffee — variations 1965-66 season

Place	Variety	% Moisture			% Reflectance Colour expressed as Y-value		
		Initial June 1966	Monsoon month October 1966	Final May 1967	Initial June 1966	Monsoon month October 1966	Final May 1967
1) Salem (Dry place)	Arabica Cherry AB	8.8	10.2	8.0	18.5	18.5	18.5
do	do	9.9	10.5	8.0	19.0	19.0	19.0
do	Robusta Cherry AB	8.9	10.5	8.1	15.0	15.0	15.0
do	do	9.8	10.0	8.2	16.0	16.0	16.0
2) Tellicherry (High humidity coastal place)	Arabica cherry AB	8.8	11.3	11.0	18.5	23.0	23.0
do	do	9.9	11.4	11.1	19.0	23.0	23.0
do	Robusta Cherry AB	8.9	12.3	11.2	15.0	23.0	23.0
do	do	9.8	12.2	11.4	16.0	24.0	24.0

RESULTS AND DISCUSSION

The initial moistures in the samples received from the four lots set apart by the Curing Works at Salem and Tellicherry, were found to be 8.8 % and 9.9 % in case of Arabica and 8.9 % and 9.8 % respectively in case of Robusta cherry.

It was found that the maximum moisture levels obtained in Salem were 10.5 % for Arabica and 10.7 % for Robusta, whereas in Tellicherry 11.7 % for Arabica and 12.5 % for Robusta were recorded during monsoon period. Driage took place in samples stored at a dry place like Salem. The trend of moisture variations for one particular lot stored at Salem and Tellicherry are shown in Graphs 1 and 2.

Due to absorption of moisture, the samples stored at Tellicherry have shown more bleaching in case of Robusta than in Arabica which absorbed less moisture than Robusta. The increase in Y-value (colour) in case of Arabica samples was from 18.5 to 23.0 whereas in case of Robusta samples, it was from 15.0 to 24.0. The higher the Y-value, the higher is the bleaching. Visible changes were noticed in case of Tellicherry-stored samples beyond a moisture level of 10.5 %. Practically, the samples were partially monsooned at Tellicherry. The bushel weight recordings taken at Tellicherry were found to decrease, this being more in Robusta than in Arabica after storage period. Swelling of the seeds was also noticed in case of samples stored at Tellicherry as shown by the decrease in weight/volume ratios. No changes in colour and swelling were noticed in Salem samples after storage.

From the experience and reports from other countries (6), the industry is often inclined to point out that 12 % moisture is a standard moisture content of coffee. It is of interest to point out that at lower temperatures

Fig. 1. — Tellicherry. Arabica cherry (initial moisture 8.8 %).

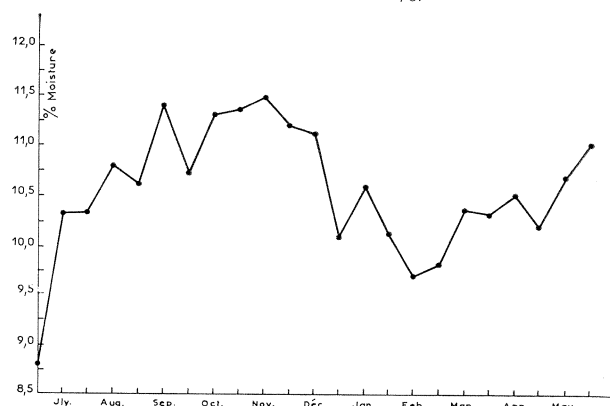
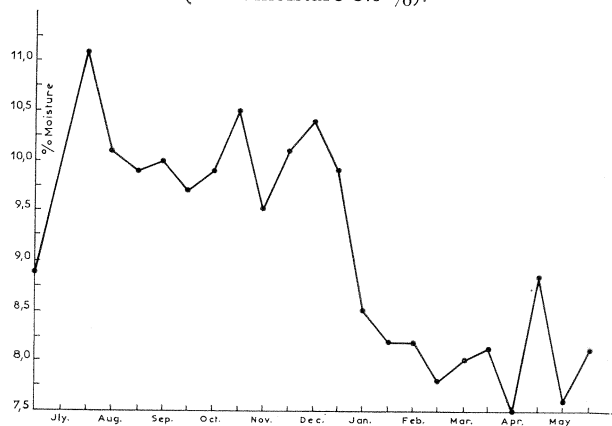


Fig. 2. — Salem. Robusta cherry (initial moisture 8.9 %).



and humidity, coffee may not show visible changes even with high moistures like 12 %. However, when longer storage occurs at high humidity in warm climates as prevalent in our country, the moisture increase beyond 10 % is not desirable. It has been reported that at temperatures in the range of 29°-32° C with high relative humidities, the beans bleach out in colour and lose most of their initial flavour properties within a few weeks. If such storage lasts for months, the quality loss will also be great. The bright, greenish blue colour of new crop coffee with higher moisture will be misleading as compared to the real bluish colour and waxy appearance of properly dried coffee. The former often gives thin cup when the colour fades rapidly. With uneven drying a mottle roast is noticed. Musty flavours will easily develop if coffee with high moistures are stored. In view of the above, the moisture in coffee should be prescribed on the basis of the temperature and humidity conditions existing in the places of production as well as the extent of storage needed for sale or export. This aspect is stressed further by the industry. Depending upon the temperature, humidity and time of storage under the influence of the above factors, unwashed coffee can also

show visible changes in colour (bleaching) if the moisture content goes above 11.0 %. If such visible changes are to be kept to the minimum, it is preferable to keep the same limit for moisture as in wet-processed coffee even though the visible changes in unwashed coffee under our climatic conditions are not so significant at moisture level near about 11.0 %. Such controls will certainly be in the interest of appearance and quality of coffee, both wet-processed and unwashed coffee. Earlier trials carried out under the auspices of the Coffee Board have indicated that coffee dried to optimum moisture within 10 % could be stored under the 300 gauge polyethylene baloon even under humid conditions. Application of this technique is simple and whenever protection is needed for coffee under storage, this method could be adopted.

ACKNOWLEDGMENT

The authors' thanks are due to the Coffee Board under whose auspices this work was carried out.

REFERENCES

1. NATARAJAN, C. P., MAJUMDER, S. K., SRINIVASAN, K. S., BALACHANDRAN, A., BHATIA, D. S. and SUBRAHMANYAN, V. — Studies on Storage of Coffee Beans. I. Physical, Chemical and Biological Changes in Coffee Beans during Storage under High Humid Conditions. *Food Sci.*, 1961, **10**, 315.
2. MAJUMDER, S. K., NATARAJAN, C. P., NARASIMHAN, K. S., GOPALAKRISHNA RAO, N., VIRAKTAMATH, C. S., BALAKRISHNAN NAIR, R., BHATIA, D. S. and SUBRAHMANYAN, V. — Studies on Storage of Coffee Beans. II. Airtight Storage in Bags. *Food Sci.*, 1961, **10**, 321.
3. MAJUMDER, S. K., NATARAJAN, C. P., NARASIMHAN, K. S., VIRAKTAMATH, C. S., BALAKRISHNAN NAIR, R., BHATIA, D. S. — Studies on the Storage of Coffee Beans. III. Bulk Storage in Bins. *Food Sci.*, 1961, **10**, 326.
4. MAJUMDER, S. K., MUTHU, M., SRINIVASAN, K. S., NATARAJAN, C. P., BHATIA, D. S. and SUBRAHMANYAN, V. — Studies on the Storage of Coffee Beans. IV. Control of *Araecerus fasciculatus* (DEG) in monsooned Coffee and Related Storage Experiments. *Food Sci.*, 1961, **10**, 332.
5. GOPALAKRISHNA RAO, N., BALACHANDRAN, A. and NATARAJAN, C. P. — Moisture Variations in Coffee Beans during Storage under Different Climatic Conditions. *Indian Coffee*, Vol. XXXIII n° 1, Jan. 1969.
6. SIVETZ, M. and FOOTE, H. E. — Coffee Processing Technology. Vol. I, 1963, p. 158, AVI Publishing Co. Inc., West Port.

GOPALAKRISHNA RAO (N.), BALACHANDRAN (A.), NATARAJAN (C. P.). — **Influence de la teneur en eau du café au cours de la conservation.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 55-58, fig., tabl., réf.

Pour que le café préparé par voie humide garde une bonne apparence pendant sa conservation, il faut maintenir de préférence la teneur en eau des grains en-dessous de 10,5 p. 100

GOPALAKRISHNA RAO (N.), BALACHANDRAN (A.), NATARAJAN (C. P.). — **The role of moisture in coffee during storage.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 55-58, fig., tabl., réf.

To maintain the appearance of wet-processed coffee, the moisture is pre-

GOPALAKRISHNA RAO (N.), BALACHANDRAN (A.), NATARAJAN (C. P.). — **Einfluss des Wassergehalts im Kaffee während der Lagerung.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 55-58, fig., tabl., réf.

Damit der nass aufbereitete Kaffee während der Lagerung ein gutes Aussehen bewahrt, muss der Wassergehalt der Bohnen vorzugsweise unter 10,5 %

si la température de stockage est de l'ordre de 26-35° C et le degré d'humidité de l'air ambiant supérieur à 70 p. 100.

Du café ayant une forte teneur en eau peut se bien conserver si la température et l'humidité du milieu ambiant sont basses.

Les changements dans l'aspect du café non lavé sont plus difficiles à percevoir, aussi une teneur en eau de 11 p. 100 peut-elle être satisfaisante.

Lorsque l'on détermine des teneurs en eau optima pour la conservation du café, il faut prendre en considération les conditions climatiques du lieu de conservation.

ferably kept below 10.5 % if the storage temperature is in the range of 26°-35° C and in humidities above 70 %. Coffee can keep well at high moisture if storage temperature and humidity are low. In the case of unwashed coffee where the changes in appearance will not significantly be noticed, moisture up to 11 % may be satisfactory. While fixing optimum moisture level for storage of coffee, the climatic conditions at the storage place should be taken into consideration.

gehalten werden falls die Lagerungstemperatur zwischen 26 und 35° C beträgt und der Feuchtigkeitsgrad der Umgebungsatmosphäre 70 % überschreitet.

Kaffee mit einem starken Wassergehalt ist sehr gut haltbar falls die Umgebungstemperatur und Feuchtigkeit niedrig sind.

Die Änderungen im Aussehen des nicht gewaschenen Kaffees sind schwieriger wahrzunehmen; ein 11 prozentiger Wassergehalt kann daher als befriedigend angesehen werden.

Wenn man ein Optimalwassergehalt für die Konservierung des Kaffees bestimmt sind die klimatischen Verhältnisse am Lagerungsort in Betracht zu ziehen.

COMMENTAIRE

M. NAVELLIER : L'interprétation du très intéressant travail du Dr Gopalakrishna est influencée par les dosages d'eau dans le café vert. Il serait donc intéressant de préciser si l'auteur a utilisé la méthode de référence proposée à l'I. S. O., ou une méthode pratique en concordance avec elle, ou encore une autre méthode donnant des résultats comparables entre eux, mais non comparables avec ceux qu'aurait donnés la méthode proposée à l'I. S. O.

M. WOOTTON : I agree with Mr. Navellier that the method for measurement of water content referred to in the paper is not entirely satisfactory. From my own experience, I would expect a reference method, such as the Guilbot method, to provide a higher value of moisture content.

In Kenya we have discovered that there are apparently two separate effects leading to a loss of quality during storage. In addition to a loss of colour, or a bleaching effect, observed after long term storage and which is associated with a high moisture content, it has become clear that a loss of liquoring quality can result from a temperature effect alone. At 35° C, sealed coffee sample possessed a markedly poorer liquor, without a concomitant bleaching effect, after one month. A similar deterioration was noticeable after four months at 30° C. I sympathise with Mr. Gopalakrishna having to face up to storage problems involving temperature as high as 35° C.

STRUCTURE PARTIELLE DE LA CAFAMARINE

J. DE ROSTOLAN, J. POISSON
Institut Français du Café et du Cacao
et Faculté de Pharmacie de Paris

La cafamarine est un principe amer déjà signalé par G. BERTRAND en 1901 (1) et isolé d'un caféier sauvage de Madagascar dépourvu de caféine, *Coffea buxifolia*. La technique d'isolement de ce produit a été décrite par CHASSEVENT, d'ORNANO et POUGNEAUD dans une communication présentée à Trieste en 1967 (2), faisant suite à une étude préliminaire de 1965 (3). Rappelons qu'elle fait appel à une extraction à froid par l'éthanol, suivie d'une purification par passage sur résine échangeuse d'ions et filtration sur gel de Sephadex G-10 sous contrôle de l'absorption dans l'UV.

La cafamarine, même soigneusement purifiée, est un produit amorphe, légèrement jaune, d'une amertume prononcée.

Son spectre UV montre un maximum unique et important à 276 nm ($\log \epsilon$ 4,10), non décalé en milieu alcalin, qui évoque un chromophore triène comme celui du gentiopicroside (4).

Le spectre IR (*) présente une forte bande attribuable au même chromophore à ν 1.670 cm^{-1} , accompagnée d'une autre moins intense à 1.710 cm^{-1} . D'autre part, on note à 900 cm^{-1} une bande d'insaturation faible mais nette.

Le spectre RMN dans le diméthylsulfoxyde- d_6 à 60 MHz n'est pas très caractéristique, sauf dans les bas champs où existent deux signaux isolés sous forme de deux doublets à δ 6,6 et 7,9 ppm ($J_{\text{HH}} = 1,5$ Herz) relatifs à un système AX porté par des doubles liaisons.

Le caractère amorphe de la cafamarine nous a conduits à examiner son dérivé acétylé. Par acétylation pyridinée, la cafamarine donne un mélange de plusieurs produits qui peut être fractionné par chromatographie sur alumine dans le benzène, puis dans le chloroforme. On élue ainsi par le chloroforme une substance majoritaire qui cristallise dans le méthanol en donnant un produit pur.

La formule centésimale de ce dérivé, déterminée par analyse par combustion et par spectrométrie de masse, est $\text{C}_{36}\text{H}_{46}\text{O}_{15}$. Le spectre UV conserve le maximum à 275 nm du produit de départ et le spectre IR (dans KBr) les bandes à ν 900, 1.670 et 1.710 cm^{-1} (deux bandes) et 1.230 cm^{-1} (une bande large).

Le spectre RMN (dans le deutérochloroforme à 60 MHz), relativement complexe, présente les éléments suivants (déplacements en δ ppm) :

- un massif de 15 protons entre 1,4 et 2,2 ppm sans signal distinct, en particulier d'un groupe méthyle,
- 5 singulets de 3 protons relatifs aux groupes acétyle, entre 1,95 et 2,25 ppm,
- deux groupes de signaux mal résolus, l'un vers 4 ppm, l'autre vers 5 ppm, attribuables en partie aux protons géminés aux groupes acétyles,
- un système AX analogue à celui de la cafamarine, sous forme de deux doublets à 6,41 et 7,6 ppm avec la même constante de couplage.

Le spectre de masse donne une valeur de m/e 718 pour l'ion moléculaire et on y trouve plusieurs pics interprétables (figure p. 60).

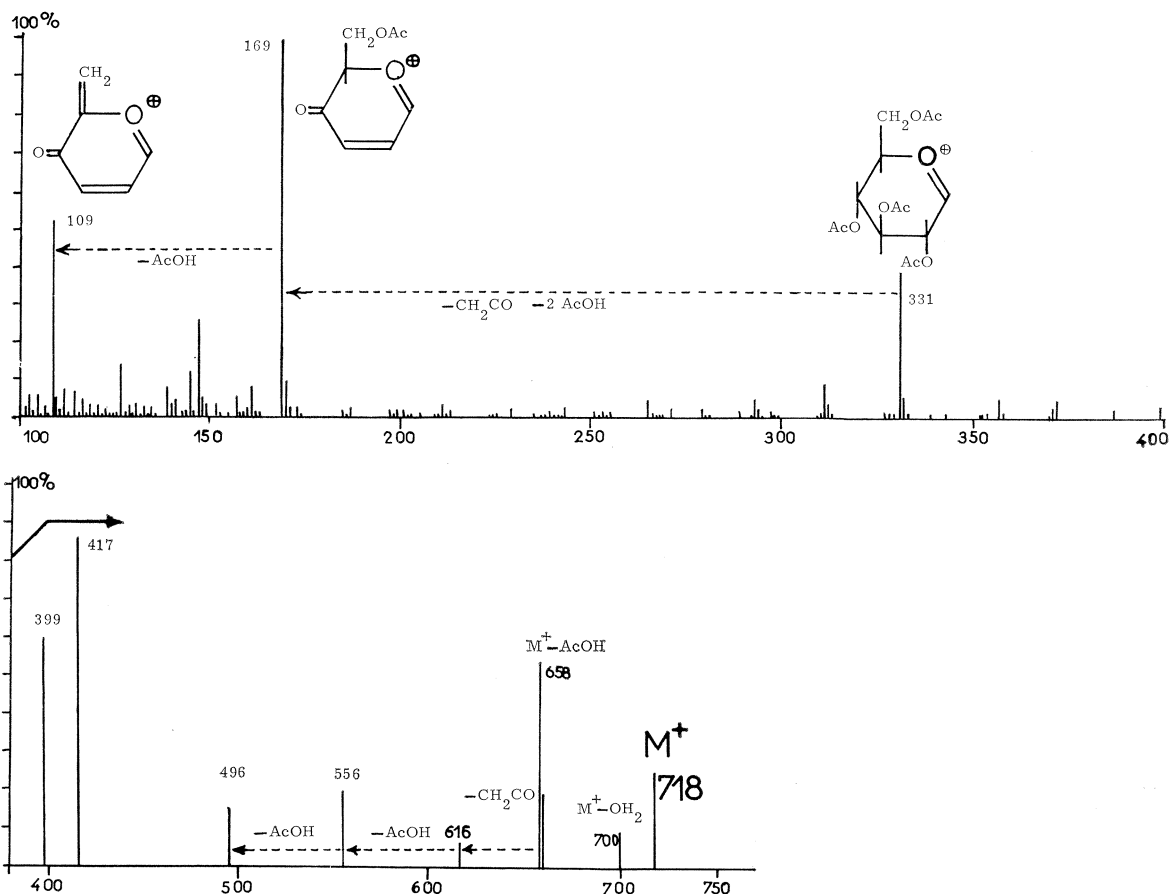
Un tel spectre indique clairement la présence d'un reste hexopyranose (5), mais ne renferme aucun pic caractéristique de la fragmentation de la partie « aglucone », sauf peut-être le pic à M-18 indiquant une fonction hydroxyle libre, probablement tertiaire puisque non acétylée.

Les éléments structuraux déduits de l'étude spectrale précédente sur l'acétylcafamarine font de celle-ci un dérivé pentaacétylé avec une formule résultant de l'union d'un hexose tétraacétylé avec une aglucone monoacétylée en $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_6$.

Il en résulte que la génine elle-même a une formule en $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_5$, avec huit cycles ou doubles liaisons, dont trois sont conjuguées. Elle doit également comporter trois hydroxyles dont au moins un tertiaire. Enfin un

(*) Produit déposé sur lame.

SPECTRE DE MASSE DE L'ACÉTYLCAFAMARINE. La partie m/e 380 à 750 est agrandie dix fois et simplifiée



groupe carbonyle peut être envisagé pour tenir compte de la bande IR à 1.710 cm^{-1} .

Ces attributions structurales ont été confirmées et complétées par l'étude d'autres dérivés de la cafamarine :

— L'hydrogénation catalytique par le platine réduit de son oxyde dans l'éthanol neutre, effectuée sur la cafamarine, s'accompagne de la disparition du chromophore UV à 276 nm , le spectre du produit hydrogéné étant vide au-delà de 240 nm (maximum à 215 nm). De même, le spectre IR ne montre plus les bandes autour de 1.700 cm^{-1} .

— L'hydrogénation de l'acétylcafamarine dans les mêmes conditions consomme deux moles, correspondant à la saturation d'une double liaison et aussi à l'hydrogénolyse d'un groupe acétyle. En effet, on retrouve ici l'absence de maximum à 276 nm dans le spectre UV, l'absence de bande IR à $\nu 1.670 \text{ cm}^{-1}$, et l'absence du système AX dans le spectre NMR vers les bas champs. De plus, le spectre NMR ne montre plus que quatre bandes acétyles vers $\delta 2 \text{ ppm}$.

— La désacétylation de la pentaacétylcafamarine selon Zemplén dans le méthanolate de sodium permet

de récupérer la cafamarine. Il ne semble donc pas que se produise de réarrangement lors de l'acétylation.

— Enfin, l'hydrolyse de la cafamarine en milieu sulfurique dilué donne plusieurs produits :

- des substances extractibles par le chlorure de méthylène qui n'ont pas été étudiées,
- une fraction insoluble dans l'alcool contenant les sucres. Une étude de celle-ci par chromatographie sur papier a montré que l'on avait affaire uniquement au glucose. La petite quantité disponible n'a pas encore permis de confirmer cette identité par voie chimique.
- une fraction soluble dans l'eau et l'alcool d'où a été tirée une substance amorphe ayant les caractéristiques spectrales de la cafamarine et qui peut être considérée comme la génine. Elle donne une réaction négative avec le perchlorure de fer et une coloration rouge violacée avec l'acide sulfurique à chaud, utilisable pour sa caractérisation en chromatographie sur plaque (cette réaction est d'ailleurs également fournie par la cafamarine et par son dérivé acétylé).

Il n'est pas possible de donner des indications plus précises à l'heure actuelle sur la structure de la génine

Sa formule en C_{20} oriente naturellement vers un enchaînement diterpénique, mais rien ne permet de l'affirmer. On remarquera à ce propos que l'on a isolé de l'insaponifiable des graines de café plusieurs diterpènes, dont le cafestol et le kahwéol, dont les structures ont été récemment établies (6,7).

En conclusion, la cafamarine doit être considérée comme un principe amer hétérosidique qui est le glu-

coside d'une génine indéterminée. Les travaux sur cette constitution se poursuivent actuellement.

Pour terminer, nous voulons remercier le Docteur B. C. DAS pour les déterminations de spectres de masse sur un appareil A. E. I. MS-9 à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles du CNRS à Gif-sur-Yvette, ainsi que Madame ZUBER pour les mesures de Résonance Magnétique Nucléaire, Madame LECRAS pour les microhydrogénations et le Professeur MESTER (Gif) pour la chromatographie des sucres.

RÉFÉRENCES

1. BERTRAND (G.). — *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1901, 3^e S., **25**, 379.
2. CHASSEVENT (F.), d'ORNANO (M.), POUGNEAUD (S.). — *Café Cacao Thé*, 1967, **11**, 235 et 343.
3. D'ORNANO (M.), CHASSEVENT (F.), POUGNEAUD (S.). — I. F. C. C., Deuxième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Paris 3-7 mai 1965, Communication, p. 131.
4. CANONICA (L.), PELIZZONI (F.), MANITTO (P.), JOMMI (G.). — *Tetr. Lett.*, 1960, 7 (24); *Tetrahedron*, 1961, **16**, 192.
5. BUDZIKIEWICZ (H.), DJERASSI (C.), WILLIAMS (D. H.). — *Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry*, vol. 2, p. 203 — Holden Day Ed., 1964.
6. DJERASSI (C.), CAIS (M.), MITSCHLER (L. A.). — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1959, **81**, 2386.
7. KAUFMANN (H. P.), SEN GUPTA (A. K.). — *Chem. Ber.*, 1964, **97**, 2652.

ROSTOLAN (J. de), POISSON (J.). — **Structure partielle de la cafamarine**. Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris) 1970, p. 59-62, fig., réf.

L'étude spectrale de la cafamarine, principe amer du *Coffea buxifolia*, et de plusieurs de ses dérivés, notamment la pentaacétylcafamarine $C_{36}H_{46}O_{15}$, permet de dégager quelques éléments structuraux et d'avancer que la cafamarine est un hétéroside formé par l'union du glucose avec une génine de structure indéterminée, de formule $C_{20}H_{26}O_5$, comportant au moins trois hydroxyles et un système triénique.

ROSTOLAN (J. de), POISSON (J.). — **Partial structure of cafamarine**. Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris) 1970, p. 59-62, fig., réf.

Spectroscopic investigations of cafamarine, a bitter principle from *Coffea buxifolia*, and of several derivatives, namely pentaacetylcafamarine $C_{36}H_{46}O_{15}$, lead to some structural evidences. Thus, cafamarine is a glycoside, the aglycon of which contains at least three hydroxyles and a trienic system with a formula $C_{20}H_{26}O_5$. The backbone remain unknown.

ROSTOLAN (J. de), POISSON (J.). — **Teilstruktur des Cafamarins**. Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris) 1970, p. 59-62, fig., réf.

Die Spektralprüfung des Cafamarins, eines Bitterstoffs von *Coffea buxifolia*, und mehrerer seiner Derivate, namentlich des Pentaacetylcafamarins $C_{36}H_{46}O_{15}$ gestattet einige Strukturelemente herauszustellen und zu behaupten, dass es sich bei Cafamarin um ein Heterosid handelt das aus der Verbindung des Glukosids mit einem Aglykon unbekannter Struktur besteht, dessen Formel $C_{20}H_{26}O_5$ lautet und das wenigstens drei Hydroxyle und ein Dreifachbindungssystem beträgt.

DISCUSSION

La discussion à laquelle l'exposé de M. Poisson a donné lieu n'ayant pas été enregistrée sur bande magnétique, il ne nous est pas possible de la reproduire ici.

Nous signalons deux interventions qui avaient été rédigées par leurs auteurs :

M. COSTE : Je voudrais signaler, ou rappeler brièvement, que les recherches, objet de la communication du Prof. Poisson, s'intègrent dans un ensemble dont notre Institut a pris l'initiative, en accord notamment avec le gouvernement malgache.

Le but de ces recherches repose sur l'intérêt de produire des cafés naturellement pauvres en caféine ou sans caféine, susceptibles d'être consommés sans inconvénient de santé par une catégorie de consommateurs que la charge plus ou moins élevée de cet alcaloïde, notamment dans les Robusta, éloigne du café. Les recherches de l'I. F. C. C. pour cet objet sont poursuivies par trois voies :

*La première porte sur le matériel végétal, extrêmement varié, qu'on rencontre à Madagascar et dans des îles voisines, dont la caractéristique dominante est d'être plus ou moins complètement dénué de caféine. Un travail très important de regroupement en collections sur deux de nos stations à Madagascar a été entrepris ; déjà une quarantaine d'espèces ont été réunies. Les prospections et les études botaniques et systématiques sont conduites par les Prof. R. Portères et J. Leroy du Muséum National d'Histoire Naturelle à Paris ; les recherches au plan génétique et cytologique sont effectuées, en collaboration avec l'O. R. S. T. O. M. à Paris, par un généticien qui sera prochainement secondé par un autre spécialiste. L'étude agronomique de ces caféiers est conduite par plusieurs de nos collaborateurs. Enfin, nos laboratoires de recherches, à Nogent-sur-Marne, près de Paris, effectuent les études chimiques et technologiques des fèves produites par ces espèces, encore à peu près inconnues. Les recherches dont le Prof. Poisson de la Faculté de Pharmacie de Paris vient de vous rendre compte s'intègrent dans ces dernières et je profite de la circonstance pour dire à ce dernier combien j'apprécie la collaboration qu'il a bien voulu nous apporter dans ce domaine très particulier de la cafamarine. La connaissance de l'identité de cette substance amère, qui est susceptible de faire obstacle à la consommation de la boisson préparée à partir de ces fèves, comme de sa genèse, est indispensable à la conduite de nos travaux, notamment d'hybridations. Une autre voie de recherches en ce domaine est empruntée, avec la recherche d'hybridations entre *C. arabica* et *C. robusta*.*

*Enfin, une autre voie encore est représentée par la recherche, en Ethiopie même, d'écotypes de *C. arabica* susceptibles d'être cultivés en Afrique tropicale à des altitudes inférieures à celles que dans ces régions requiert l'espèce.*

Ces recherches sont conduites en République de Côte d'Ivoire, en République Fédérale du Cameroun et en République Malgache, en collaboration étroite avec l'O. R. S. T. O. M.

L'intérêt des travaux de M. le Prof. Poisson ne peut encore qu'être renforcé à la lumière des indications générales que je viens de donner.

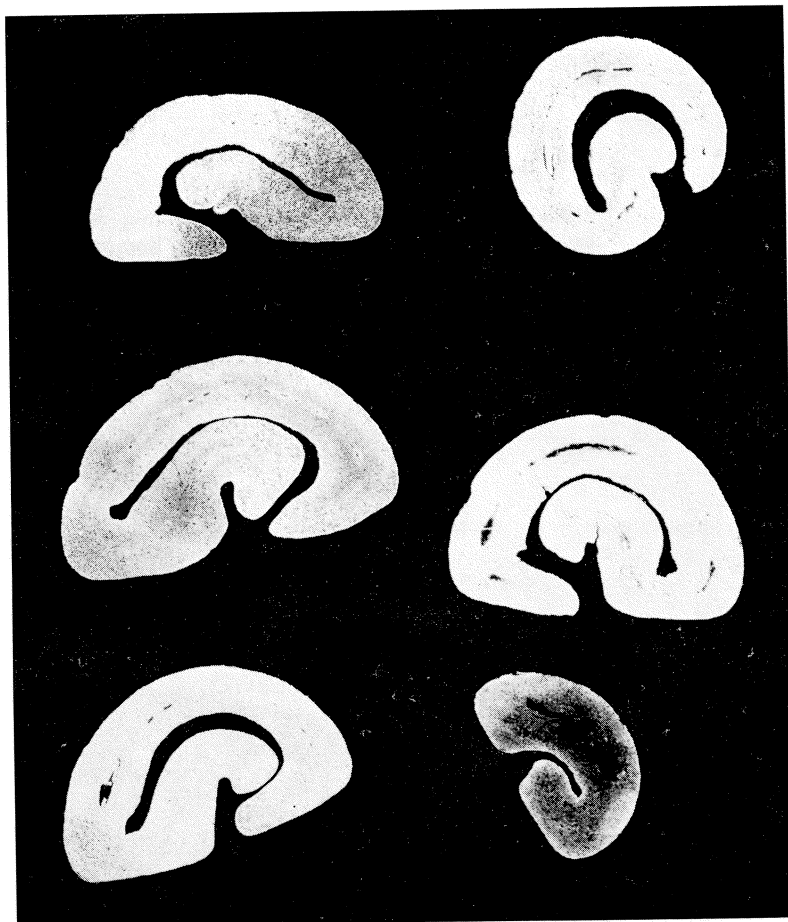
M. REYMOND : Je tiens à féliciter le Prof. Poisson pour cette communication très intéressante ; pourrait-il nous donner les quantités de cafamarine qui ont été utilisées pour ses travaux ?

UNBEHANDELTER UND BEHANDELTER KAFFEE UNTER DEM MIKROSKOP

E. BÜRGIN

Coffex AG., Schaffhausen, Schweiz

UNBEHANDELTE UND BEHANDELTE KAFFEEBOHNEN UNTER DEM MIKROSKOP



Santos
Columbia
Haiti

Santos Perl
Robusta
Madagascar

Mit meinem Referat über Kaffeebohnen unter dem Mikroskop möchte ich Ihnen keine chemische Vorlesung halten, sondern Ihnen zeigen, welche strukturellen Veränderungen die Kaffeebohne bei der Entcoffeinierung und Dampfbehandlung erfährt, sowie die Verteilung und Veränderung einiger wichtiger Substanzen vor und nach diesen Behandlungen demonstrieren.

Das erste Bild zeigt Ihnen generell die Unterschiede einiger Kaffeeprovenienzen im Schnitt.

Der letzte Schnitt zeigt Ihnen den kleinbohnigen, natürlich coffeinfreien Kaffee, *Coffea buxifolia*, aus Madagascar mit 0,038 % Coffein. Dieser Kaffee zeigt unter dem Mikroskop ein von *Coffea* sehr abweichendes Bild. Er soll statt Coffein den Bitterstoff Cafamarin enthalten und ist infolgedessen ungenießbar.

Bild 1.

DER AUFBAU DER KAFFEEBOHNE

Bild 2.

In dieser schwachen Vergrößerung lässt sich die äusserste Zellschicht deutlich erkennen, ferner die acellulare Schicht, die sich praktisch durch die Mitte der ganzen Kaffeebohne hinzieht. Diese Schicht enthält hauptsächlich Hemizellulose, wenig Pektin aber keine Zellulose. Sehr schön ist der Embryo erkennbar, der sich in dieser acellularen Schicht befindet.

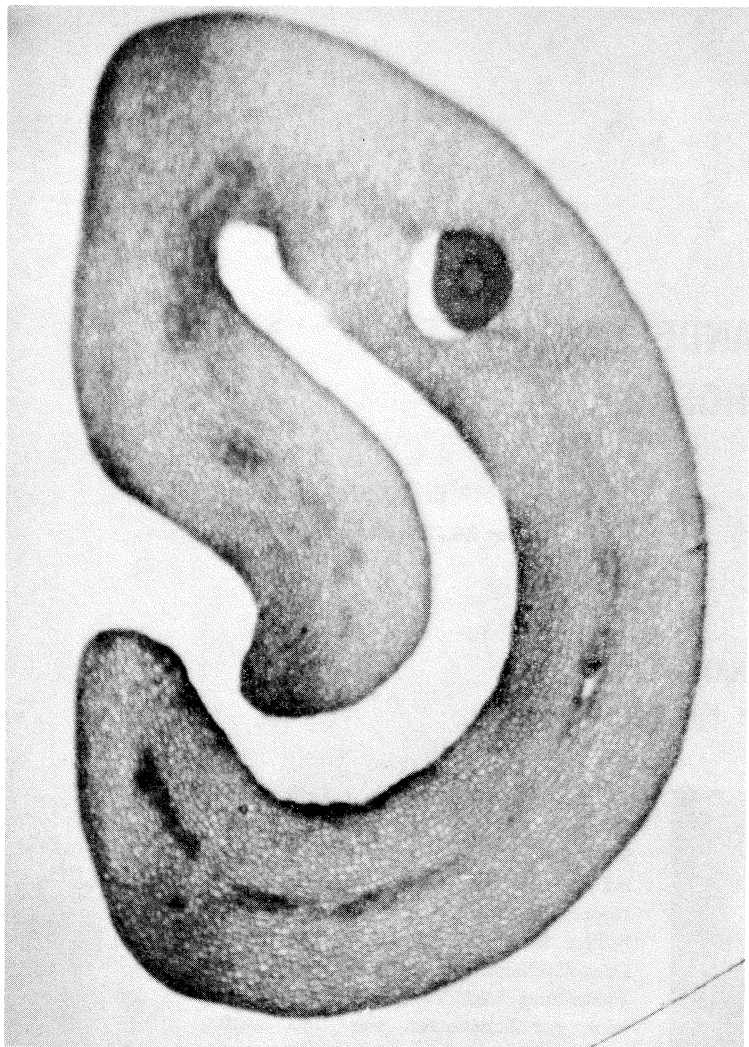


Bild 3.

Bei stärkerer Vergrößerung erkennen wir die Kutikula, die äusserste Schicht auf der äusseren Zellschicht, dem Endosperm. In den inneren Zellschichten sehen wir die Zellen querschnitts mit den charakteristisch wellenförmigen Wandungen, sowie Zellen in der Aufsicht. Gut erkennbar sind auch die Zellkerne.

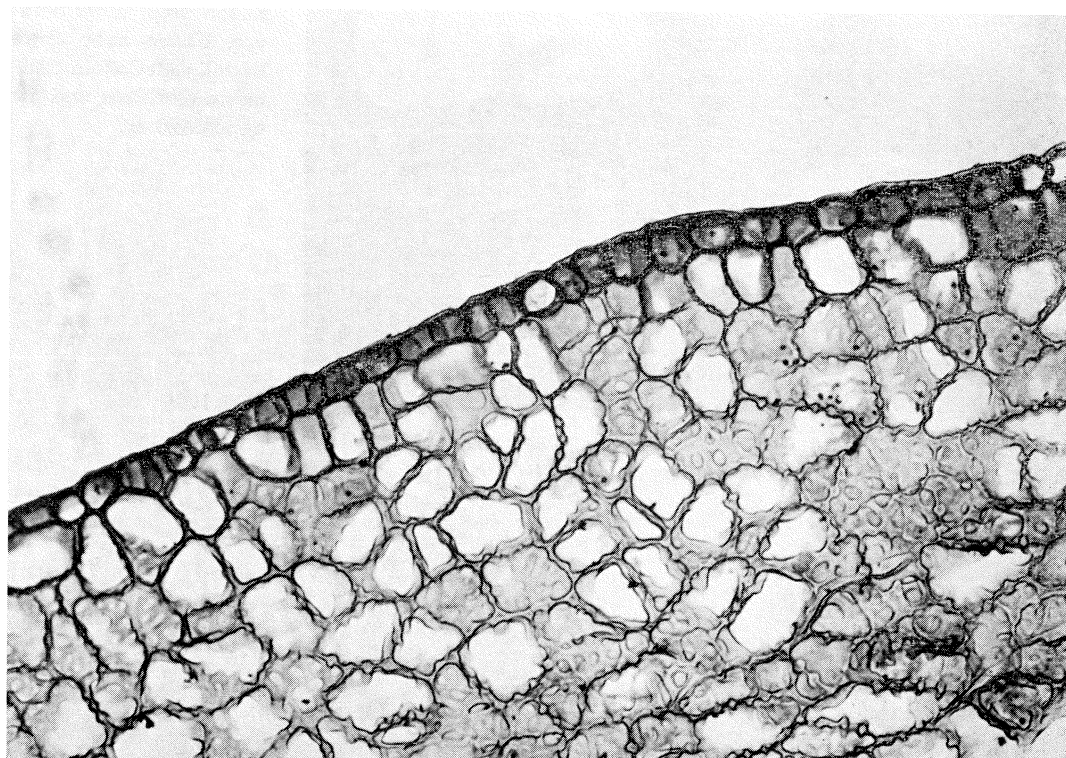


Bild 4.

Derselbe Santos Kaffee in noch stärkerer Vergrößerung zeigt die im letzten Bild erwähnten Details.

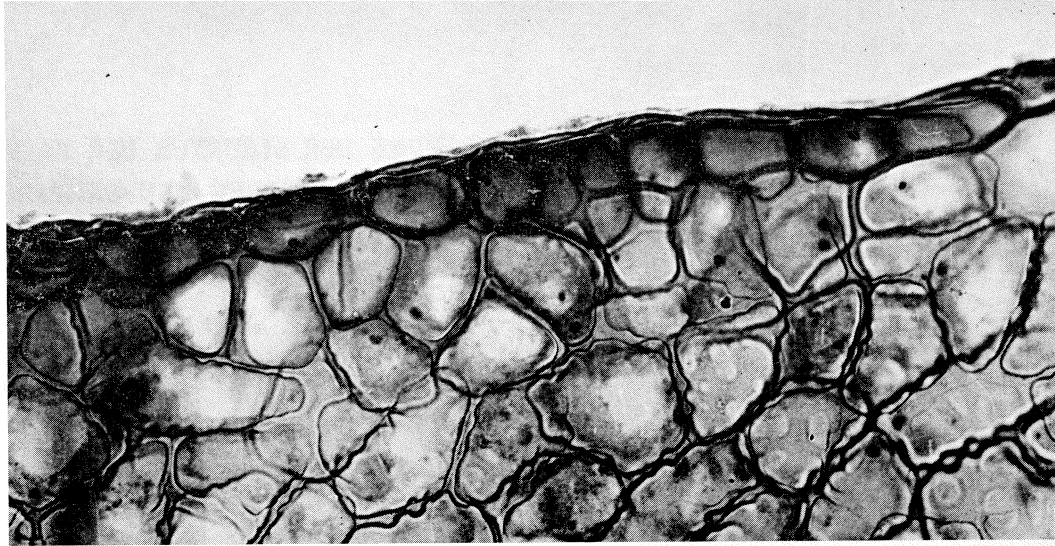


Bild 5.

Robusta zeigen im Gegensatz zu Arabica Kaffees eine starke Vermehrung der äussersten Zellen, dem Endosperm.

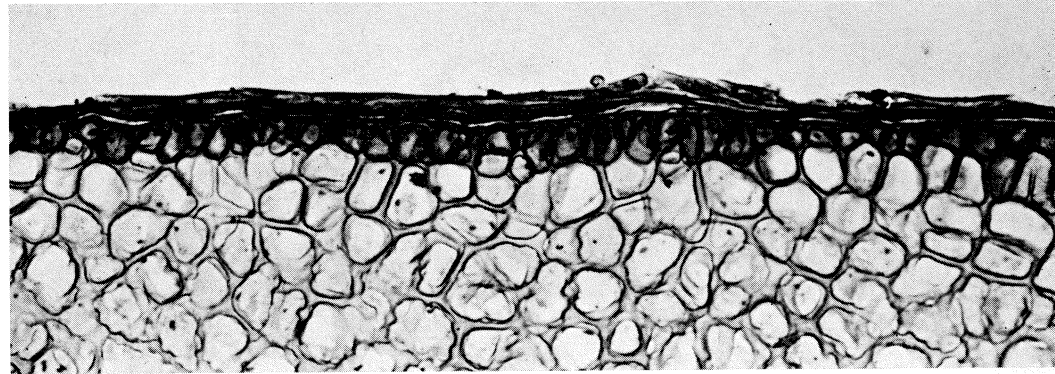
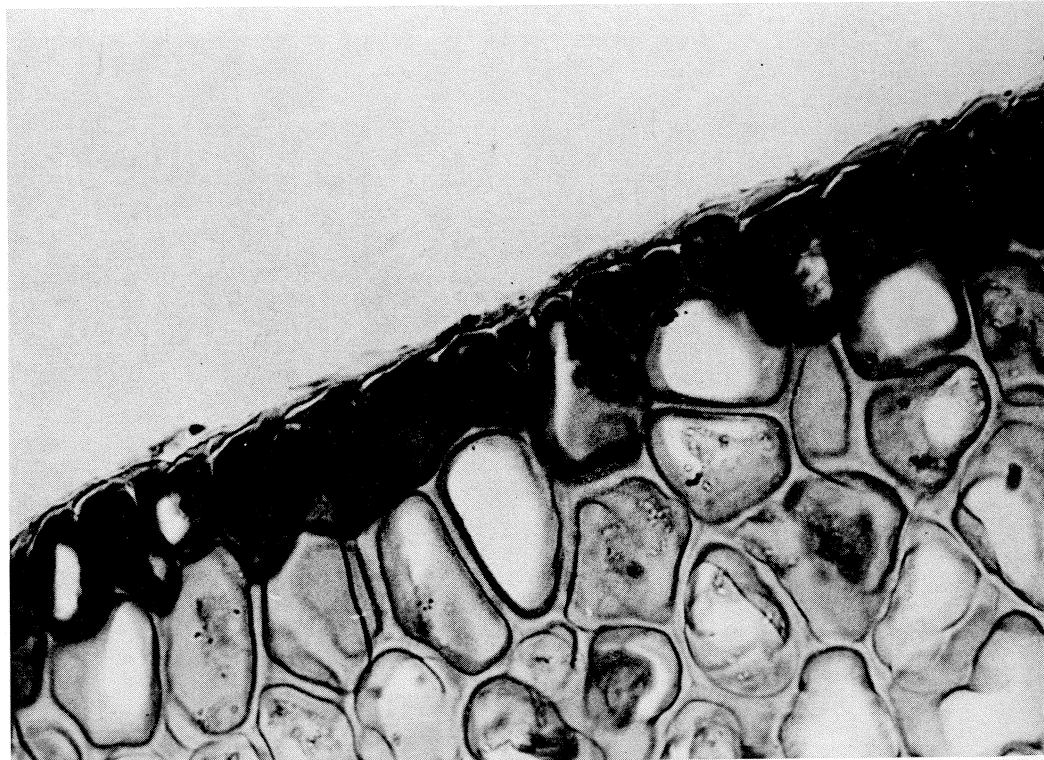


Bild 6.

Derselbe Robusta Kaffee stärker vergrössert.



VERÄNDERUNG DER STRUKTUR DER KAFFEEBOHNE BEI DER ENTCOFFEINIERUNG UND DAMPFBEHANDLUNG

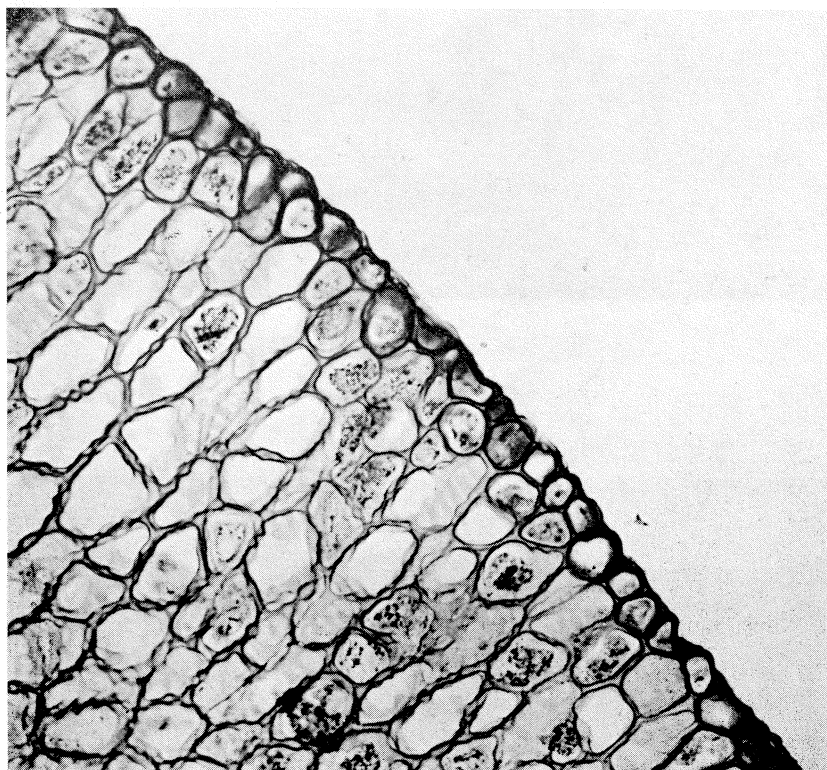


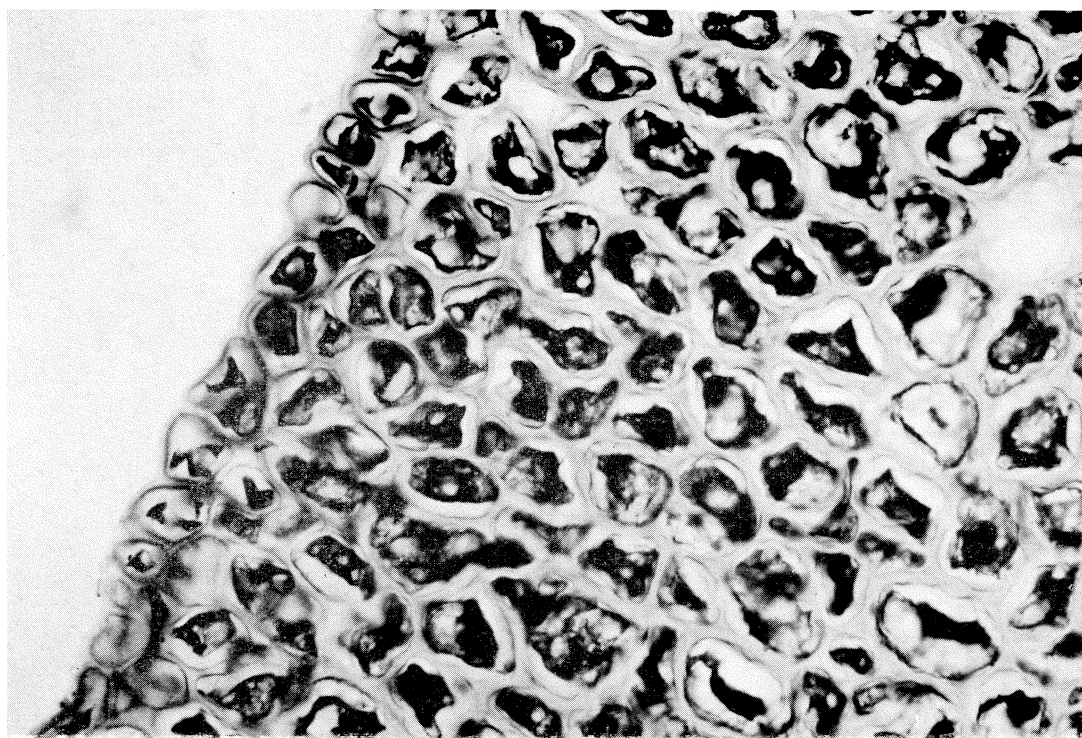
Bild 7.

Dieses Bild zeigt Ihnen nochmals zum Vergleich mit den folgenden Bildern einen unbehandelten Santos Kaffee.

Scharfe Abgrenzung der Zellen und deutlich erkennbare Zellkerne.

Bild 8.

Coffeinfreier Kaffee. Die Zellenstruktur ist weitgehend verschwunden, das Plasma ist koagulierte und die Zwischenräume sind verschmiert. Es sind keine Zellkerne mehr sichtbar. Diese Veränderungen, die hauptsächlich in den äusseren Partien der Kaffeebohne sichtbar sind, haben keinen Zusammenhang mit der Verwendung von Lösungsmitteln, sondern sind eine Einwirkung der Feuchtigkeit und Wärme, wie das nächste Bild zeigt erleidet auch gedämpfter Kaffee, der also mit keinem Lösungsmittel behandelt wurde, dieselbe Veränderung.



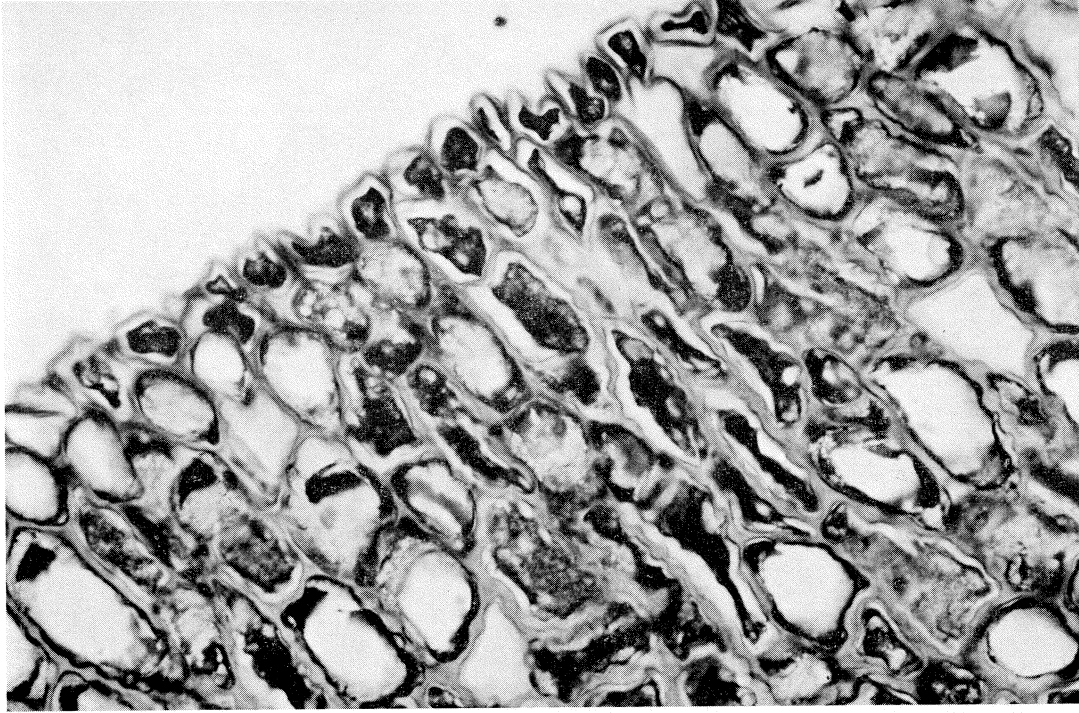


Bild 9.

**DER EINFLUSS DER WÄRME BEI STARKER
VERGRÖßERUNG**

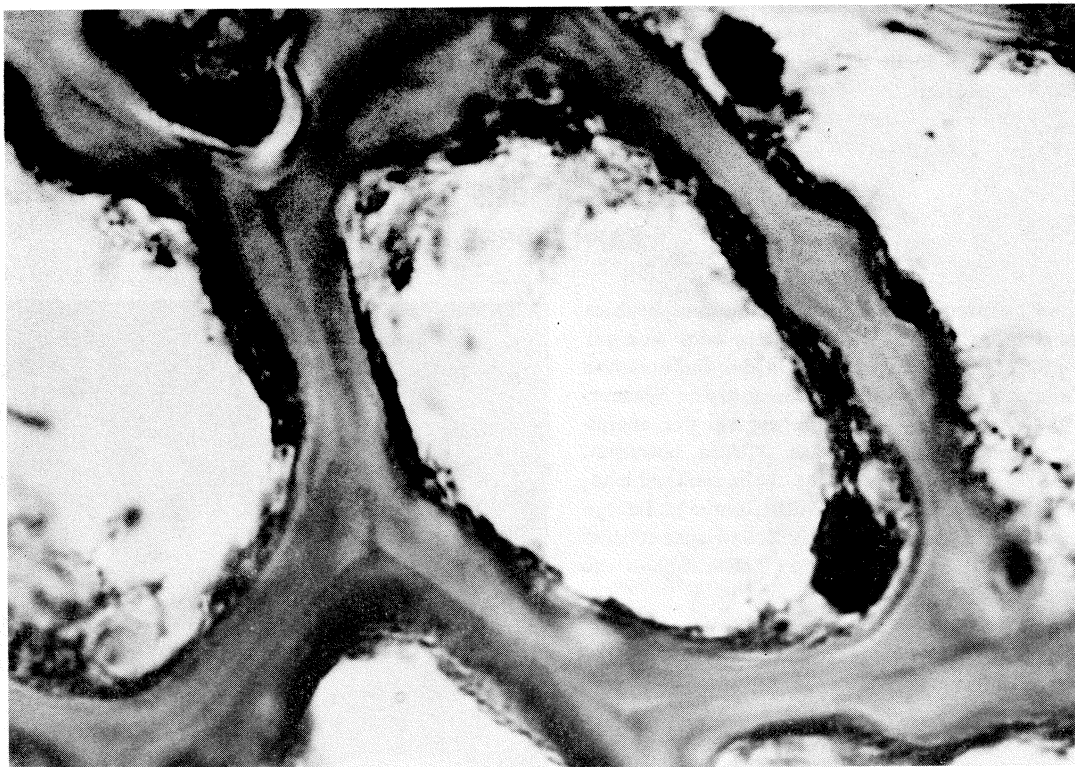


Bild. 10. — *Unbehandelter Kaffee*

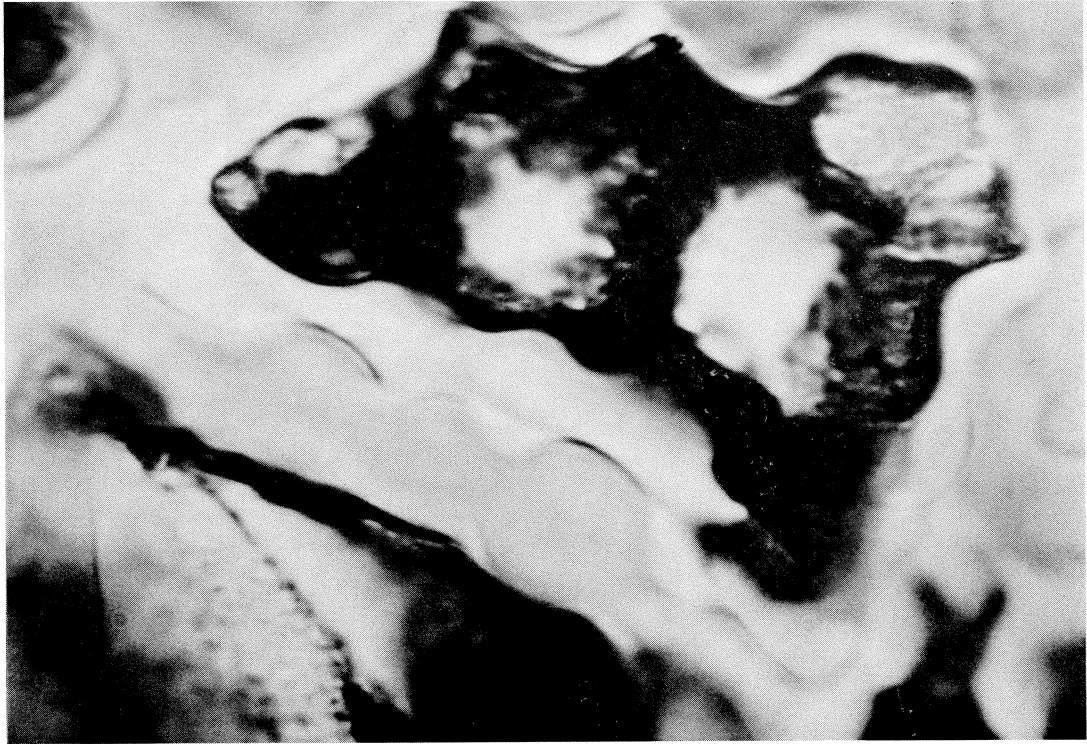


Bild 11. — Coffeinfreier Kaffee

Es gibt einen sog. coffeinfreien Kaffee, der diese Veränderung nur in ganz geringem Masse aufweist. Eine Koagulation ist nicht zu erkennen, und teilweise sind auch die Zellkerne noch sichtbar. Bei diesem Kaffee handelt es sich um den in Brasilien entcaffeinieren oder industrialisierten Kaffee. Dieser Kaffee ist nach unseren Vorschriften nicht coffeinfrei, da der Coffeingehalt 0,3-0,5 % beträgt.

In diesem Zusammenhang möchte ich beantragen, dass alle verantwortlichen Stellen einen Mindestgehalt an wasserlöslichen Extraktivstoffen des gerösteten Kaffees in die Gesetzesvorschriften aufnehmen, da derart behandelter Kaffee einen wässrigen Extraktgehalt von unter 20 % aufweisen kann, was unbedingt eine Wertverminderung des Kaffees darstellt.

BLASENBILDUNG IN DER GERÖSTETEN KAFFEEBOHNE

Wie Ihnen bekannt ist, neigen verschiedene Arabica Kaffees je nach der Art der Röstung mehr oder weniger zur Blasenbildung. Der Druck, der in der Kaffeebohne bei der Röstung durch die Verdunstung des Wasserdampfes und durch die Gasentwicklung bei der chemischen Umsetzung entsteht, soll bis 20 Atm. betragen. Dadurch wird eine Blähung der Bohnenoberfläche, ausgehend von der acellularen Schicht, bewirkt. Infolge der geringeren Durchlässigkeit der Zellzwischenräume neigen insbesondere behandelte Kaffeebohnen zu dieser Blasenbildung.

Bild 12.

Zeigt Ihnen einen Schnitt durch unbehandelte, geröstete Columbia-Kaffeebohnen mit deutlich erkennbarer Blasenbildung.



VERTEILUNG UND VERÄNDERUNG DES FETTES IN DER KAFFEEBOHNE

Der Fettnachweis in der Kaffeebohne kann mit Sudan III oder einem anderen Farbstoff durchgeführt werden. Die Fettverteilung ist in der ganzen Kaffeebohne gleichmässig. Coffeinfreie wie auch dampfbehandelte Kaffees zeigen keine grossen Unterschiede gegenüber unbehandeltem Kaffee. Bei coffeinfreien Kaffeebohnen kann eine Anreicherung in den äusseren Zellgeweben festgestellt werden.

Die von Herrn Prof. Dr. WURZIGER an der letzten Tagung in Trieste mit Gibb'schem Reagens festgestellte Wachsschicht an der Oberfläche der Kaffeebohne kann ich bestätigen. Bei coffeinfreiem, aber auch bei dampfbehandeltem Kaffee ist diese Wachsschicht grösstenteils verschwunden.

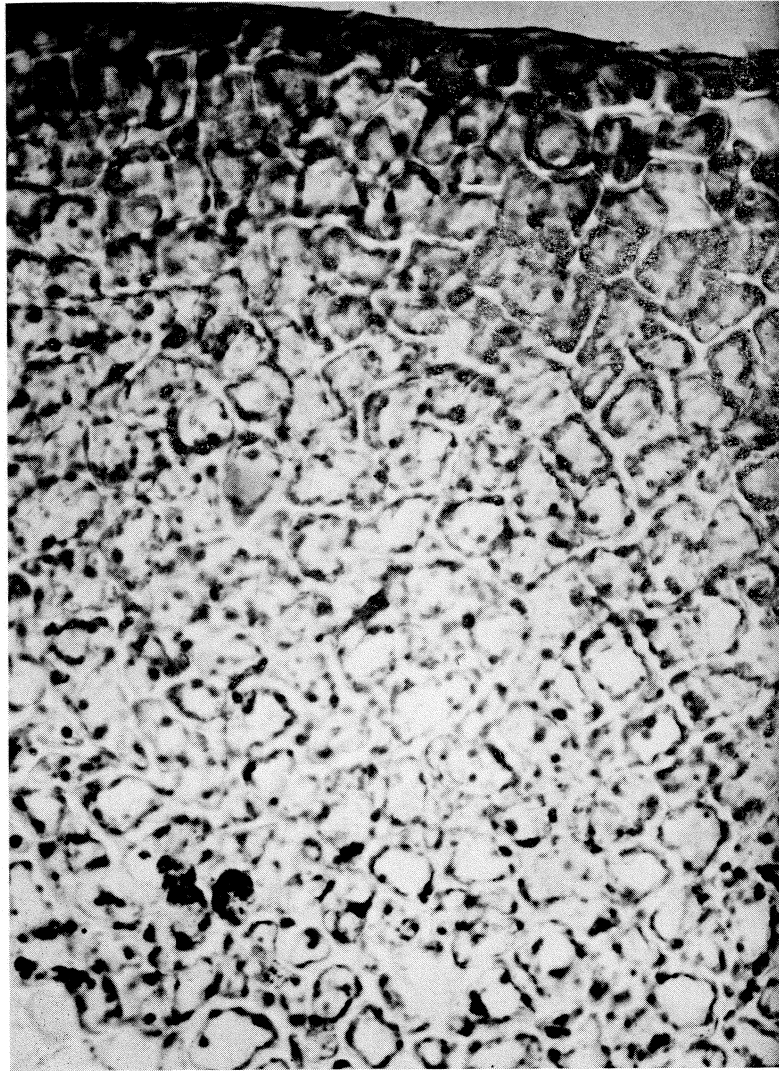
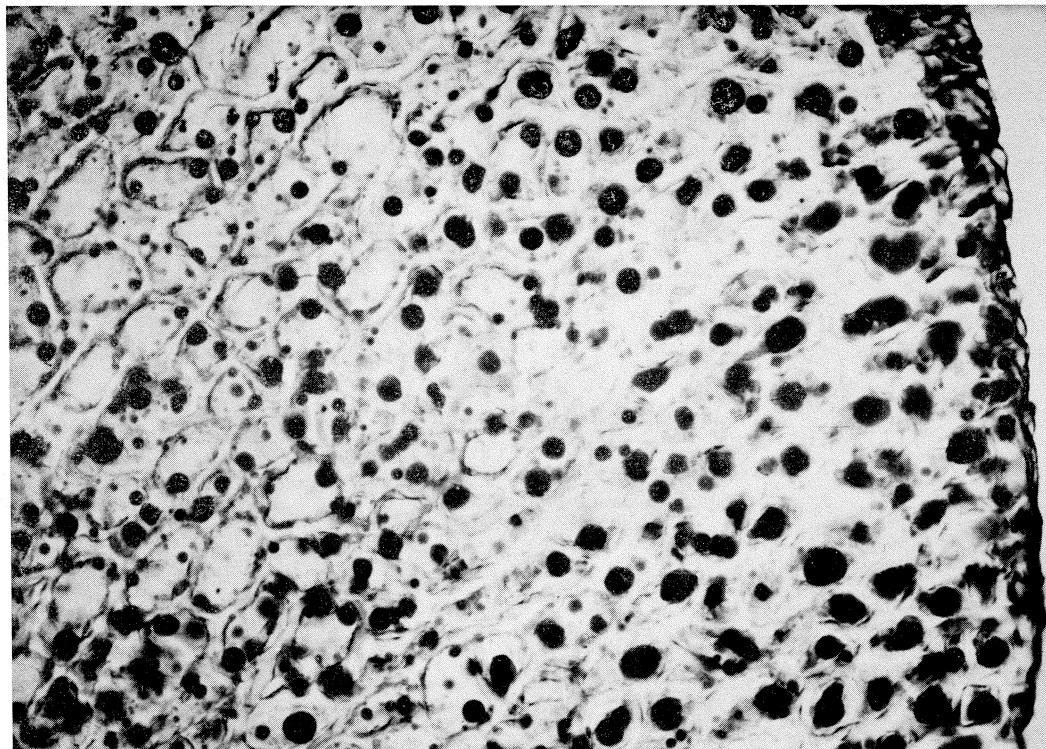


Bild 13. — *Unbehandelter Kaffee*

Bild. 14. — *Coffeinfreier Kaffee*



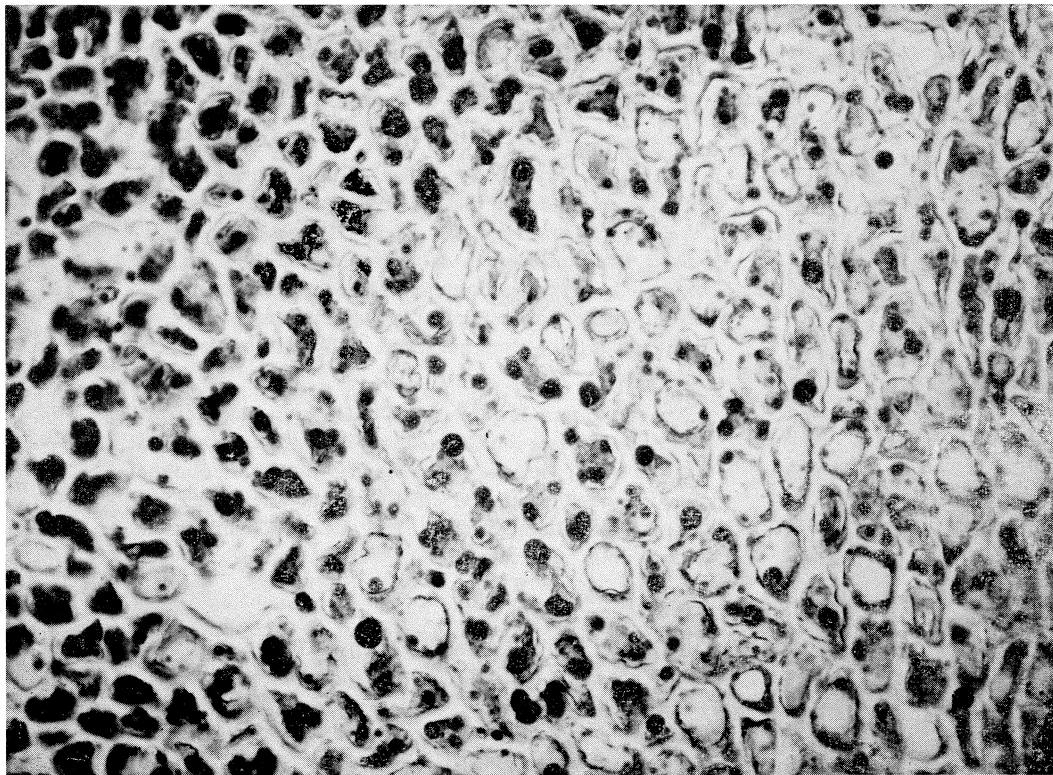


Bild 15. — *Gedämpfter Kaffee*

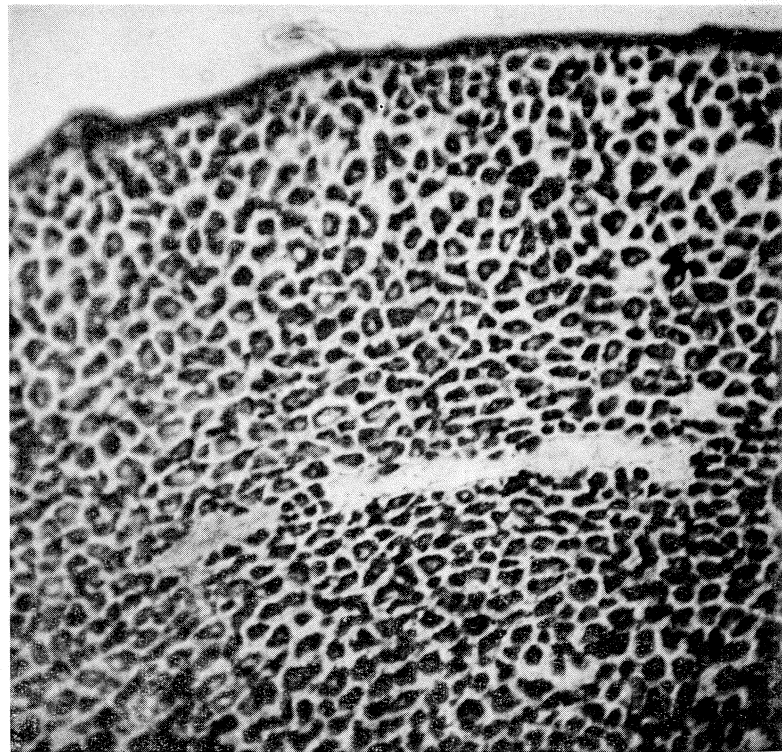
DAS COFFEIN IN DER KAFFEEBOHNE

Zum Nachweis des Coffeins in der Kaffeebohne wurden folgende Farbreaktionen verwendet : Silicowolframsäure und Jod.

Beide Farbreaktionen geben prinzipiell dasselbe Bild, für die Projektion hat sich die Jodfärbung als vorteilhaft ergeben.

Bild 16.

Unbehandelter Guatemala Kaffee zeigt die gleichmässige Verteilung des Coffeins in der ganzen Kaffeebohne. Der acellulare Raum ist ungefärbt.



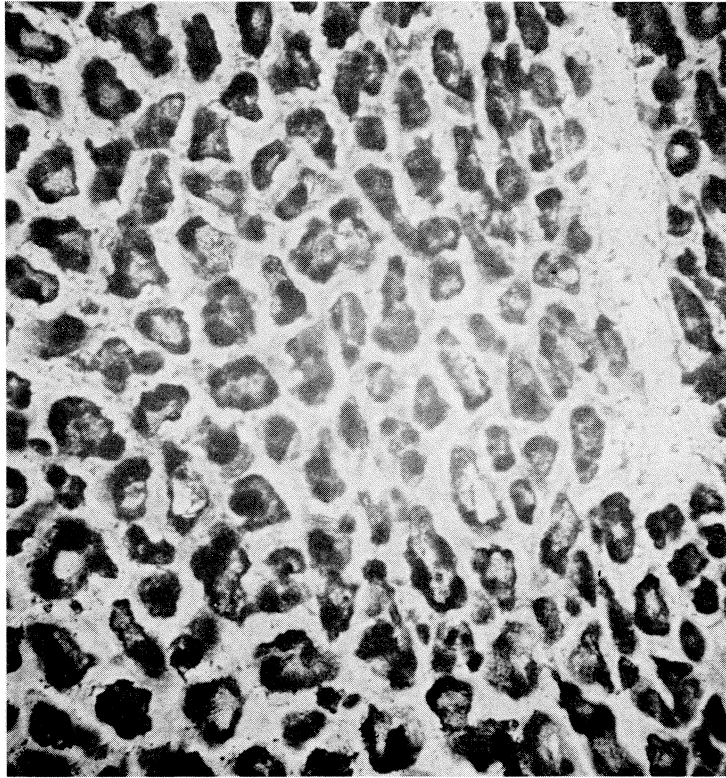


Bild 17.

Derselbe Kaffee in stärkerer Vergrößerung.

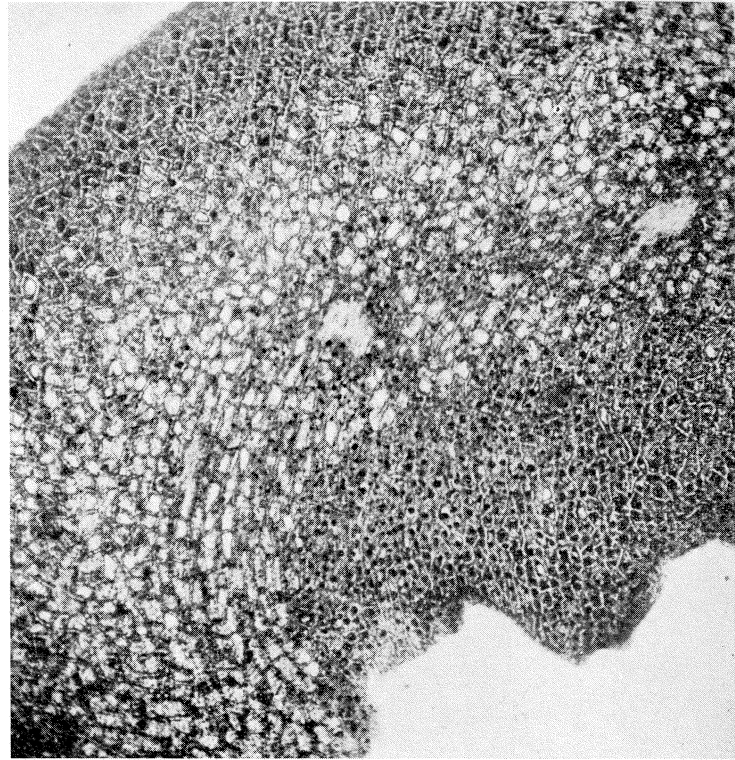


Bild 18.

Zeigt denselben Kaffee coffeinfrei. Die Zellen im Innern der Kaffeebohne sind ungefärbt, zeigen also keine Coffeinreaktion mehr. Die Aussenteile der Bohne sind dunkel gefärbt. Es handelt sich hier nicht um eine Coffeinreaktion, sondern, wie in früheren Bildern gezeigt, um die Koagulation des Zellplasmas durch die Einwirkung der Wärme.

DIE CHLOROGENSÄURE IN DEN KAFFEEBOHNEN

Es wurden 3 Farbreaktionen verwendet : Ferrichlorid, Bleiessig und Natriumnitrit-Natronlauge. Die Eisenchloridreaktion wurde als photographisch beste Methode bei den nachfolgenden Bildern verwendet.

Im Gegensatz zur Coffein- und Fettverteilung finden wir in den Kaffeebohnen eine Anhäufung der Chlorogensäure in der Mitte der Bohne.

Bild 19. - Unbehandelter Kaffee



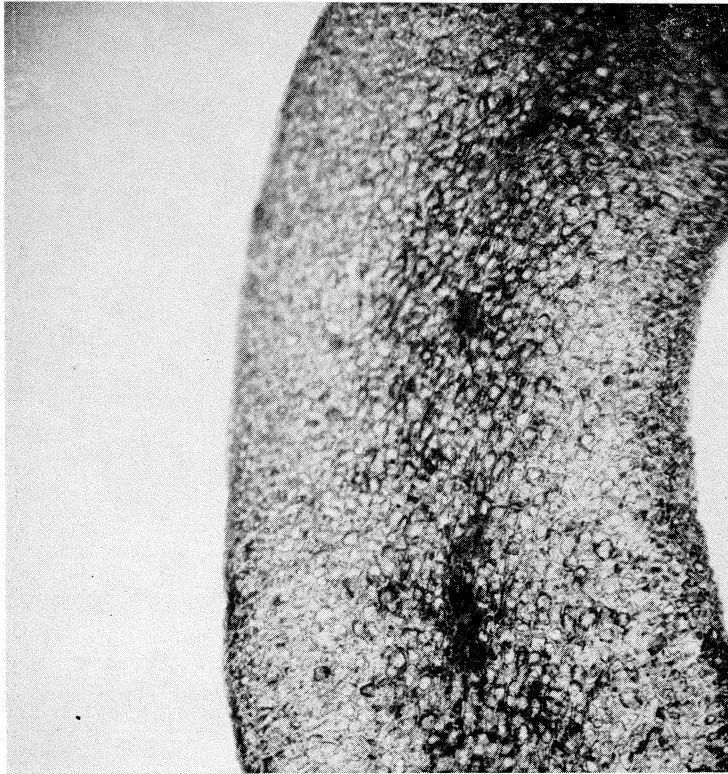


Bild 20.

Auch coffeinfreier Kaffee zeigt dieselbe Konzentration der Chlorogensäure im Zentrum der Kaffeebohne.

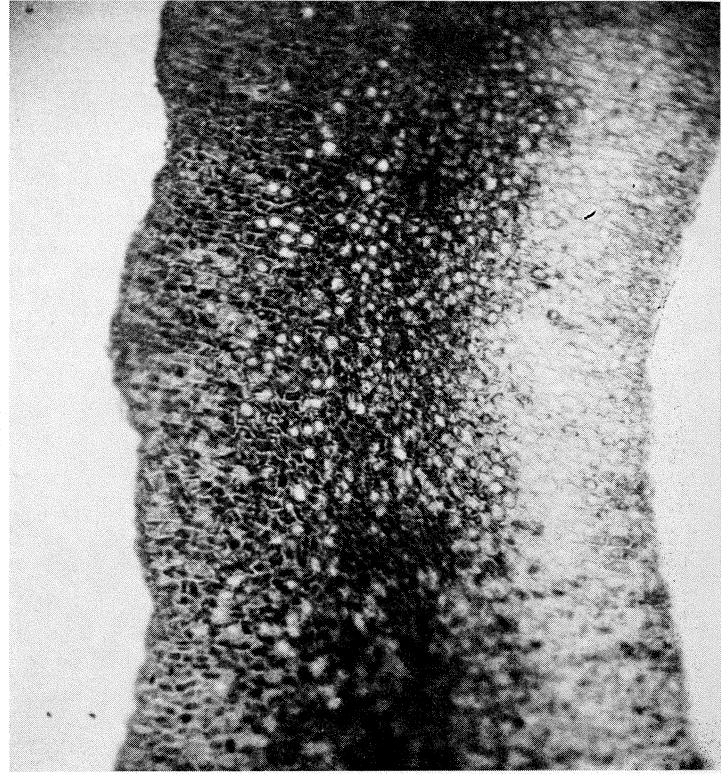


Bild 21. - Chlorogensäurenachweis in dampfbehandeltem Kaffee

Ich hoffe, Ihnen mit diesen wenigen Bildern einen Einblick in die Kaffeebohne gegeben zu haben. Einige dieser Dias sind von Herrn Röthlisberger vom botanischen Institut der Universität Zürich aufgenommen worden. Ich möchte ihm auch an dieser Stelle meinen besten Dank aussprechen. Ich hoffe, dass ich in einem späteren Referat Ihnen mehr Details und eine Erweiterung des Sortimentes chemischer Bestandteile präsentieren kann. Besonders interessiert mich auch die Veränderung der Struktur der Kaffeebohne während des Röstvorganges.

Zum Abschluss noch 2 Dias der besprochenen Stoffe, Coffein und Chlorogensäure, zwei Substanzen, die wesentlich die Eigenschaften des Kaffees beeinflussen.

Bild 22. — Coffein





Bild 23. — Chlorogensäure

BÜRGIN (E.). — **Café traité ou non traité sous le microscope.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 63-74, fig.

L'examen microscopique de cafés non traités, décaféinés et étuvés révèle dans le cas des cafés traités une intense coagulation du plasma cellulaire dans les cellules externes du grain de café. Ce phénomène est dû à une action de l'humidité et de la chaleur.

Les traitements évoqués n'entraînent aucune modification de la teneur et de la répartition des matières grasses et de l'acide chlorogénique.

La caféine n'est pas mise en évidence dans le café décaféiné. Les cafés non traités et étuvés présentent des images identiques, si l'on excepte l'observation de la coagulation du plasma dans le café étuvé.

BÜRGIN (E.). — **Microscopy of treated or untreated coffees.** Quatrième Colloque international sur la Chimie des cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 63-74, fig.

The microscopical examination of untreated, decaffeinated and steamed coffees reveals in the case of treated coffees an intense coagulation of cellular plasma in the external cells of the coffee bean. This phenomenon is due to moisture and heat.

The treatments mentioned do not entail any modification of the contents and distribution of fats and chlorogenic acid.

Caffeine is not detected in decaffeinated coffee.

Untreated and oven-dried coffees display an identical picture, if the observation concerning plasma coagulation in oven-dried coffee is excepted.

BÜRGIN (E.). — **Unbehandelter und behandelter Kaffee unter dem Mikroskop.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 63-74, fig.

Die mikroskopische Untersuchung von unbehandeltem, coffeinfreiem und gedämpftem Kaffee ergibt bei behandeltem Kaffee eine starke Koagulation des Zellplasmas in den äussersten Zellen der Kaffeebohne infolge der Feuchtigkeit und Wärmeeinwirkung.

An dem Gehalt und der Verteilung der Fettstoffe und der Chlorogensäure tritt durch die Behandlung keine Veränderung ein.

Der Coffeinnachweis bei coffeinfreiem Kaffee ist negativ, während unbehandelter und gedämpfter Kaffee dasselbe Bild ergeben, unter Berücksichtigung der Plasmakoagulation in gedämpftem Kaffee.

DISCUSSION

M. NAVELLIER : Avez-vous vu au microscope comment se répartit cette caféine dans C. buxifolia ?

M. BÜRGIN : Nein, das Coffein von dem Coffea buxifolia wurde nicht unter dem Mikroskop untersucht. Das Coffein wurde lediglich analytisch festgestellt.

M. VITZTHUM : Welche Methode wurde zur Bestimmung des Extraktgehaltes im coffeinfreien Kaffee verwendet ?

M. BÜRGIN : Die Extraktbestimmung wird nach den schweizerischen Vorschriften durchgeführt indem der Kaffee mit einer gewissen Menge Wasser extrahiert wird während 5 Minuten und dann der Extraktgehalt piknometrisch bestimmt wird.

M^{lle} CHASSEVENT : Par quelle méthode a-t-on déterminé la caféine dans Coffea buxifolia ?

M. BÜRGIN : Das Coffein des Coffea buxifolia wurde genau gleich bestimmt wie das mit coffeinfreiem Kaffee geschieht, das heisst Extraktion mit Chloroform und nachher Stickstoffbestimmung durch Kjeldahl.

M. POISSON : Les photos sur lesquelles nous a été montrée la position de l'acide chlorogénique dans la graine de café correspondent-elles à une graine sèche ou à une graine vivante, venant d'être prélevée sur un caféier ?

M. BÜRGIN : Die Chlorogensäure im unbehandelten Kaffee wurde an grünen lebenden Bohnen gemacht.

LES GLUCIDES DU CAFÉ VERT

LEUR SOLUBILISATION A L'EAU ET LEUR ÉVALUATION QUANTITATIVE

G. PICTET, A. MOREAU

Laboratoire Industriel des Produits Nestlé, Orbe

INTRODUCTION

Considérés dans leur ensemble, les glucides représentent plus de la moitié de la matière sèche du café vert. Malgré cette importance pondérale, peu de travaux leur avaient été consacrés jusqu'à ces dernières années. Ce n'est qu'à partir de 1960 que de nombreuses publications à leur sujet ont été présentées, provenant de différents groupes de chercheurs.

WOLFROM et ses collaborateurs ont soumis le café vert à une série d'extractions, dans le but d'obtenir à

l'état purifié une fraction holocellulosique insoluble dans l'alcali (1). Les glucides présents dans les extraits successifs, ou du moins leurs constituants monosaccharidiques, ont été identifiés par chromatographie sur papier et leur teneur a parfois été évaluée. De la fraction holocellulosique ont été isolés successivement un mannane (2), de la cellulose (3) et un arabinogalactane (4). La teneur de ces différents polysaccharides, rapportée au café vert initial, a été reportée dans le tableau I.

TABLEAU I

Répartition des monosaccharides entre les fractions solubilisées

Fraction envisagée	Litter.	Glucose	Galactose	Mannose	Arabinose	Fructose	Xylose	A. uroniques	Total
Ethanol 80 p. 100 .	1	2,8				2,7			5,5
Eau froide	1		+		+				3,5
Oxalate ammonium	1		+	+	+			+	—
Potasse 10 p. 100 .	1		+	traces	+		+		—
Résidu insoluble . . .	1	6,6	5,5	17,8	2,2				32,1
Holocellulose	2			5,0					5,0
Holocellulose	3	5,0							5,0
Holocellulose	4		6,1		2,4				8,5
Ethanol 70 p. 100 .	6,7	2,7	0,1			2,7			5,4
Eau froide	6	+	+	+					2,5
Eau chaude	6		3,3		1,0			+	4,3
Extraits aqueux . . .	8,9		1,0	0,3	0,5				1,8
Dégradation ClO ₂ .	8,9		3,7	0,2	1,3				5,2
Résidu insoluble . .	8,9	6,7	5,0	21,0					32,7
Total	—	6,7	9,7	21,5	1,8				39,7

Pour leur part, COURTOIS et ses collaborateurs ont étudié les glucides extractibles par l'éthanol 70 p. 100 et par l'eau, froide ou bouillante (6). Ils ont mis en évidence pour la première fois des oligosaccharides associés au saccharose et ont évalué leurs proportions relatives vis-à-vis de ce glucide (7). Des polysaccharides contenant du glucose, du galactose, du mannose et de l'arabinose ont également été solubilisés et leur teneur globalement évaluée a été indiquée dans le tableau I.

Au cours de leurs récents travaux se rapportant aux changements intervenant pendant la torréfaction (8, 9), THALER et ARNETH ont examiné entre autres les glucides du café vert. Ce dernier a été soumis successivement à des extractions organiques et aqueuses, puis à une dégradation au dioxyde de chlore. La teneur des

monoses figurant dans les fractions et dans le résidu d'extraction a été évaluée par chromatographie sur papier pour différentes variétés de café. Une valeur moyenne des quantités estimées a également été reportée dans le tableau I.

Le but de l'étude que nous présentons aujourd'hui était double :

a) déterminer la solubilisation à l'eau seule des glucides du café vert par l'application d'une température d'extraction croissante,

b) évaluer quantitativement les glucides solubilisés en employant différentes méthodes analytiques, en particulier un procédé d'oxydation enzymatique dont les réactifs ont été récemment commercialisés.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Extraction

Un mélange composite de cafés verts est congelé par aspersion d'azote liquide, puis broyé à l'aide d'un granulater à rotor oscillant, dans lequel l'état congelé est maintenu au moyen du même fluide cryogénique. Les particules de café broyé sont ensuite gonflées par un traitement à la vapeur, puis soumises dans un autoclave rotatif, modifié par nos soins, à une série d'extractions isothermiques. Cinq fractions sont successivement recueillies, correspondant aux températures d'extraction de 80, 105, 130, 155 et 180° C, qui sont directement lyophilisées dans une installation de laboratoire.

Précipitations successives

Une partie de chaque produit lyophilisé est redissoute pour réaliser une solution à 10 p. 100. Cette solution aqueuse est additionnée successivement d'acide formique 96 p. 100, d'alcool méthylique et d'éther diéthylique, suivant le schéma représenté dans la figure 1 (5). Chacun des précipités obtenus est séparé par centrifugation, lavé plusieurs fois avec le solvant de précipitation puis séché sous vide jusqu'à poids constant.

Hydrolyse acide totale

Une partie de chaque extrait sec est traitée à reflux pendant deux heures dans de l'acide chlorhydrique

0,6 N. Après refroidissement, la solution chlorhydrique est neutralisée avec du carbonate de plomb précipité, ajouté par petites portions, puis laissée reposer pen-

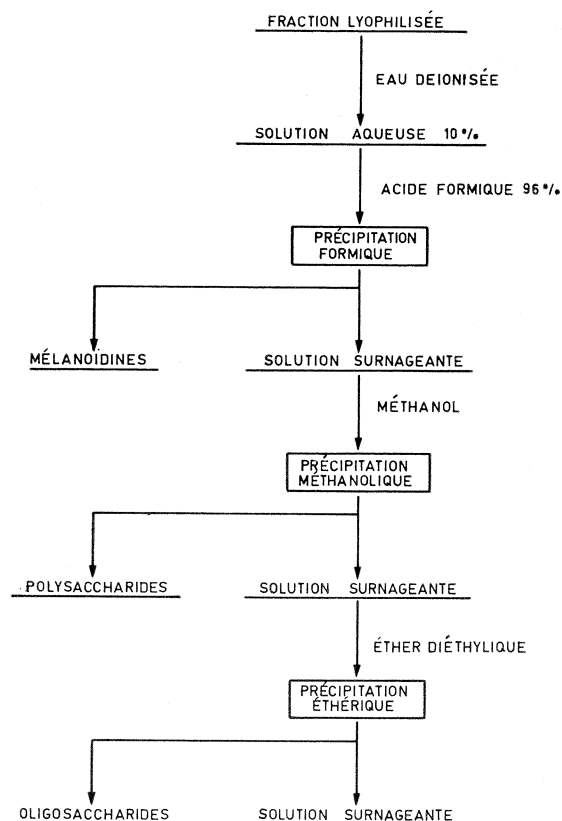


Fig. 1. — Séparation par précipitation de certains groupes de constituants du café vert

dant une nuit à 4° C. Le volume de la solution d'hydrolysate est complété à la marque et le précipité de plomb est séparé par filtration.

Colorimétrie

Les groupements réducteurs sont déterminés dans les extraits reconstitués, préalablement déféqués au carbonate de plomb, et dans les hydrolysats en appliquant la méthode développée par TIMELL et al. (10). Chaque solution, après dilution convenable, est additionnée d'une solution de 2-aminodiphényle et d'acide orthophosphorique dans l'acide acétique glacial. La couleur est développée par chauffage des échantillons dans un bain-marie à 100° pendant 45 minutes puis mesurée dans un spectrophotomètre à 320 m μ , en utilisant comme blanc de l'eau distillée additionnée de réactif. L'absorption à la même longueur d'onde de chaque solution de sucres, à laquelle on ajoute seulement l'acide o-phosphorique dans l'acide acétique, est également enregistrée. La teneur en groupements réducteurs, exprimée en unités « glucose », est calculée à partir des valeurs d'absorption se rapportant au même échantillon.

Chromatographie sur papier analytique

Les extraits reconstitués et les hydrolysats sont soumis à une chromatographie descendante sur papier Whatman 3 MM en utilisant les conditions suivantes :

Phases mobiles : acétate d'éthyle-eau-acide-acétique,
(3 : 3 : 1 v/v) (11) ;

acétate d'éthyle-eau-pyridine,

(2 : 2 : 1 v/v) (11)

Durée de séparation : 20 à 22 heures à 25° C.

Réactif de révélation : 2-aminodiphényle et acide orthophosphorique dans acide acétique glacial (10).

Température de révélation : chauffage à l'étuve (105° C) pendant 10 minutes.

Chromatographie sur papier préparative et colorimétrie

Les conditions de chromatographie sont identiques, mais la répartition des dix bandes du chromatogramme est différente. Sept bandes sont consacrées à l'échantillon examiné (hydrolysats seulement), dont trois seront soumises à une révélation directe et quatre à l'élution, et trois bandes sont réservées aux substances de référence. Après séparation et révélation des bandes-témoins, les zones contenant les différents monoses sont découpées

et placées dans un tube à essai avec le réactif colorimétrique (10). L'élution et le développement de la couleur se déroulent donc simultanément et sont renforcés par chauffage dans un bain-marie à 100° C (45 mn pour les hexoses et 30 mn pour les pentoses). La couleur développée est mesurée spectrophotométriquement, en prenant comme référence un mélange d'eau et de réactif, et la teneur de chaque monose est calculée à partir des valeurs d'absorption se rapportant soit au monose considéré, soit à une zone-témoin découpée dans le chromatogramme.

Oxydation enzymatique

Une portion de chaque hydrolysate est placée, après dilution convenable, dans une cuvette spectrophotométrique, où elle est additionnée des quantités indiquées des différents réactifs assurant la réaction enzymatique. Ces réactifs, qui sont tous fournis par la firme Boehringer et fils de Mannheim, sont les suivants :

Glucose

— Chlorhydrate de triéthanolamine et sulfate de magnésium (agents-tampon),

— triphosphate de 5-adénosine (agent de phosphorylation),

— hexokinase (catalyseur de phosphorylation),

— phosphate de nicotinamide-adénine-dinucléotide (agent d'oxydation),

— glucose-6-phosphate-déhydrogénase (catalyseur d'oxydation).

Galactose

— Mono et diphosphate de potassium (agents-tampon),

— nicotinamide-adénine-dinucléotide (agent d'oxydation),

— galactose-déhydrogénase (catalyseur d'oxydation).

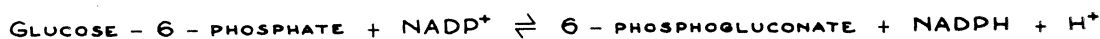
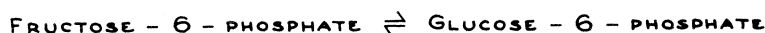
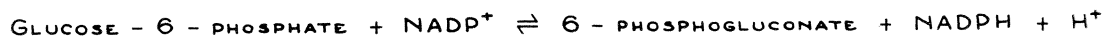
Fructose

— Mêmes réactifs que pour le glucose,

— phosphoglucose-isomérase (catalyseur d'isomérisation).

D'une manière générale, l'absorption du mélange de réaction à 340 et 366 m μ est mesurée une première fois après l'addition du tampon et des agents d'oxydation et de phosphorylation, puis une seconde fois 30 mn après l'addition des enzymes. L'augmentation d'absorption enregistrée correspond à la quantité d'agent d'oxydation réduit, suivant les réactions représentées dans la figure 2, p. 78, et permet de calculer la quantité de monose présent dans l'hydrolysate analysé.

Fig. 2. — Réactions enzymatiques se déroulant au cours des analyses



RÉSULTATS OBTENUS

Extraction

L'extraction en autoclave a été pratiquée sur un mélange composite de cafés verts (Colombie, Santos et Angola) pour réduire autant que possible l'influence exercée par l'origine du café traité.

Le gonflage à la vapeur du café moulu, appliqué préalablement à toute extraction, est destiné à faciliter la solubilisation des matières solides et à éviter un bouchage de la crépine servant à l'évacuation de l'extrait.

Précipitations successives

Le poids des mélanoidines et des glucides précipités, exprimé en grammes et rapporté à un kilogramme de café vert sec, est représenté graphiquement dans la figure 3. Les mêmes valeurs sont rassemblées dans le tableau II en pourcentage de ce café initial. Les mélanoidines ne représentant pondéralement qu'une faible

partie du café traité et leur contenu glucidique ne pouvant que difficilement être déterminé, leur examen n'a pas été poussé plus avant.

Lors des extractions correspondant aux températures de 80 et de 105°, une fraction importante des oligosaccharides présents dans le café vert et une faible partie des polysaccharides passent en solution. Dès que la température d'extraction dépasse 130°, on constate par contre une importante solubilisation des polysaccharides et une mise en solution comparable des oligosaccharides.

Colorimétrie

Les groupements réducteurs figurant dans les extraits aqueux reconstitués et dans les hydrolysats sont représentés dans la figure 4 et consignés dans le tableau II. La dénomination de « sucres réducteurs I et II » correspond respectivement aux groupements réducteurs figurant dans l'échantillon avant et après l'hydrolyse acide. Au cours de ce dernier traitement, les groupe-

TABLEAU II. — Répartition des monosaccharides et des polysaccharides entre les fractions d'extraction

Constituant envisagé	Méthode analytique	Fraction 1	Fraction 2	Fraction 3	Fraction 4	Fraction 5	Total
Sucres réducteurs I.....	Colorimétrie directe	0,68	0,09	0,10	1,02	1,10	2,99
Sucres réducteurs II.....		4,61	0,64	0,74	6,07	5,95	18,01
Sucres réducteurs totaux ..		5,29	0,73	0,84	7,09	7,05	21,00
Oligosaccharides.....	Précipitations succes- sives	4,12	0,24	0,41	2,63	3,17	10,57
Polysaccharides.....		0,47	0,14	0,50	5,12	4,31	10,54
Glucides totaux.....		4,59	0,38	0,91	7,75	7,48	21,11
Glucose.....	Chromatographie sur papier préparative et colorimétrie	3,00	0,22	0,04	0,16	0,06	3,48
Galactose.....		0,57	0,14	0,37	5,02	4,69	10,79
Mannose.....				0,03	0,59	1,80	2,42
Arabinose.....			0,09	0,21	1,34	0,59	2,23
Xylose.....				0,10	0,43		0,53
Monoses totaux.....		3,57	0,45	0,75	7,54	7,14	19,45
Glucose.....	Oxydation enzymati- que	2,64	0,25	0,08	0,11	0,16	3,24
Galactose.....		0,57	0,12	0,60	6,01	5,35	12,65
Fructose.....		0,99	0,06	0,03			1,08
Monoses totaux.....		4,20	0,43	0,71	6,12	5,51	16,97

Grammes solubilisés à partir de 1kg de café vert initial

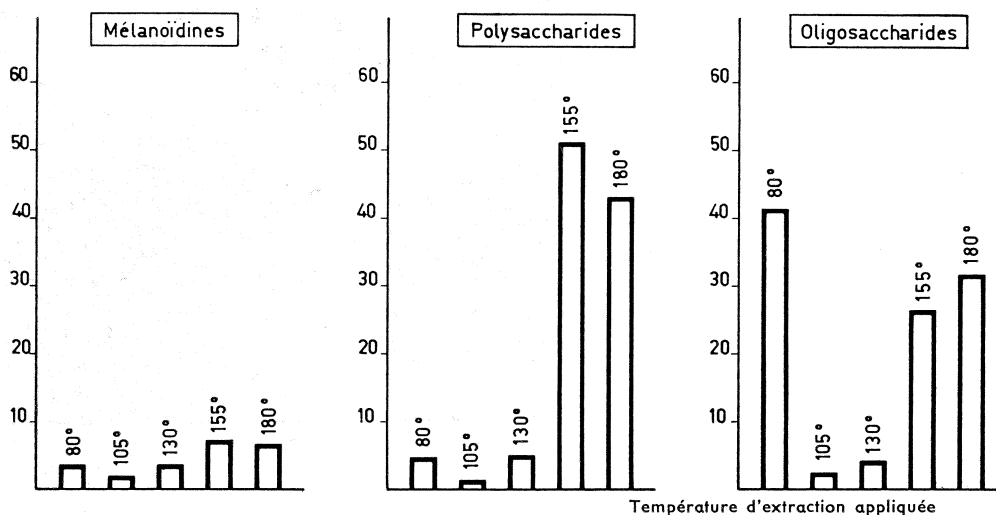


Fig. 3. — Solubilisation des hydrates de carbone évaluée par précipitations successives

Grammes solubilisés à partir de 1kg de café vert initial

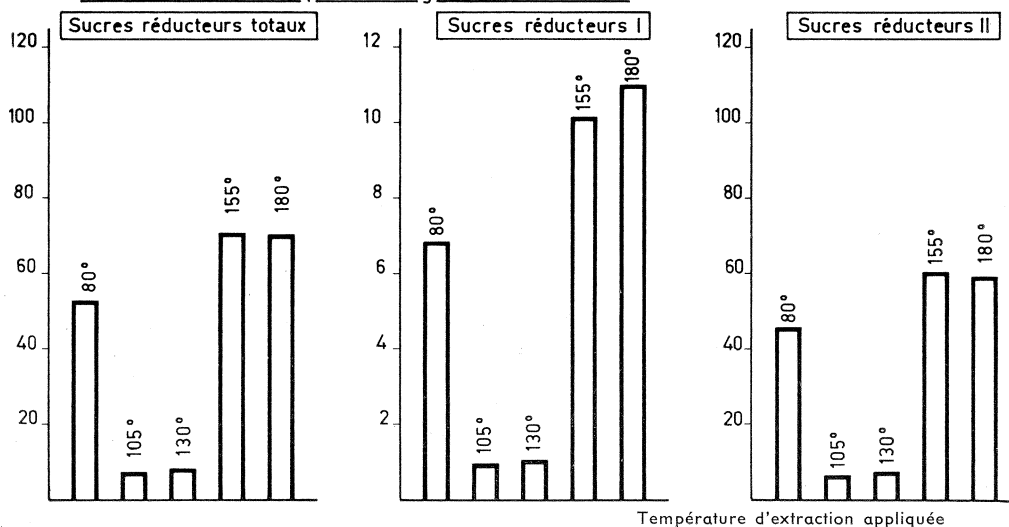


Fig. 4. — Solubilisation des hydrates de carbone évaluée par colorimétrie

ments réducteurs existants sont condensés par réaction de MAILLARD avec des groupements aminés et ne peuvent ensuite être évalués à nouveau par le procédé colorimétrique. Il est donc justifié d'additionner les groupements réducteurs dosés avant et après hydrolyse pour apprécier la quantité de monoses solubilisés sous la forme de leurs polymères.

Il convient de souligner la bonne concordance existant entre l'ensemble des oligo et des polysaccharides d'une part et la somme des groupements réducteurs d'autre part. Cette concordance est également satisfaisante pour les fractions envisagées individuellement, surtout pour celles correspondant aux températures supérieures à 130°.

La solubilisation des groupements réducteurs, déterminés avant ou après hydrolyse acide, semble s'effectuer en deux phases distinctes en fonction de la température d'extraction appliquée. Une première phase se déroule aux températures inférieures ou égales à 105°, alors que la seconde s'opère dès que la température de 130° est atteinte et dépassée.

Chromatographie sur papier analytique

La détermination par chromatographie sur papier des glucides présents dans les extraits reconstitués et déféqués met en évidence les substances suivantes :

- Fraction 1 : **Saccharose**, glucose et fructose.
- Fraction 2 : Oligosaccharide non identifié.
- Fraction 3 : Pas de constituant distinct.
- Fraction 4 : Galactose et arabinose en traces.
- Fraction 5 : Galactose, mannose et arabinose, en plus d'un oligosaccharide non identifié.

Le chromatogramme reproduit dans la figure 5 concerne les hydrolysats des fractions d'extraction et permet de constater la présence des glucides suivants :

Fraction 1 : Galactose, **glucose** et fructose ; traces de saccharose, d'un acide uronique, de mannose et d'arabinose.

Fraction 2 : Galactose, **glucose** et arabinose ; traces d'acide uronique, de mannose et de fructose.

Fraction 3 : Acide uronique non précisé, **galactose**, glucose et **arabinose**, traces de mannose et de xylose.

Fraction 4 : **Galactose**, mannose et arabinose ; traces d'acide uronique, de glucose et de xylose.

Fraction 5 : **Galactose**, **mannose** et arabinose ; traces d'acide uronique, de glucose et de xylose.

Le galactose et le glucose étant incomplètement séparés par le premier solvant de chromatographie (acétate d'éthyle-eau-acide acétique), un solvant plus efficace (acétate d'éthyle-eau-pyridine) a été employé (voir figure 6).

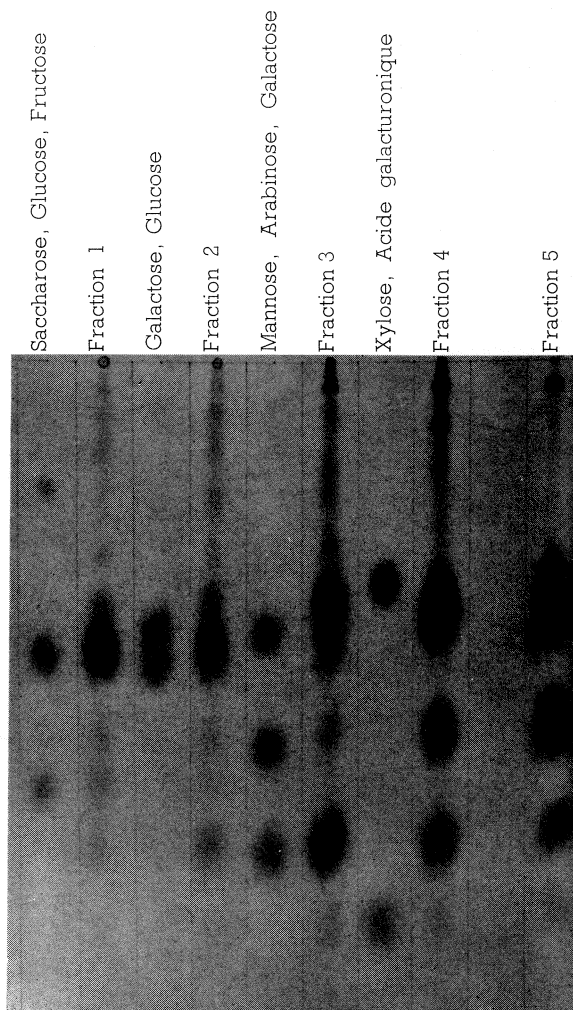


Fig. 5. — Chromatogramme des différents hydrolysats (solvant de séparation = acétate d'éthyle-eau-acide acétique)

Chromatographie sur papier préparative et colorimétrie

La proportion de la plupart des monoses identifiés a pu être déterminée par chromatographie préparative et colorimétrie. Seuls le saccharose et le fructose développent une coloration insuffisante pour que leur teneur puisse être évaluée avec précision. Pour sa part, l'acide uronique non identifié est mélangé sur les chromatogrammes avec des oligosaccharides incomplètement hydrolysés et son appréciation quantitative par ce procédé analytique n'est pas possible.

Des hydrolyses pratiquées en employant d'autres acides minéraux n'ont pas apporté les résultats attendus, surtout en ce qui concerne la séparation ultérieure des monoses présents.

La teneur des différents monoses dans les fractions d'extraction est représentée graphiquement, en fonction

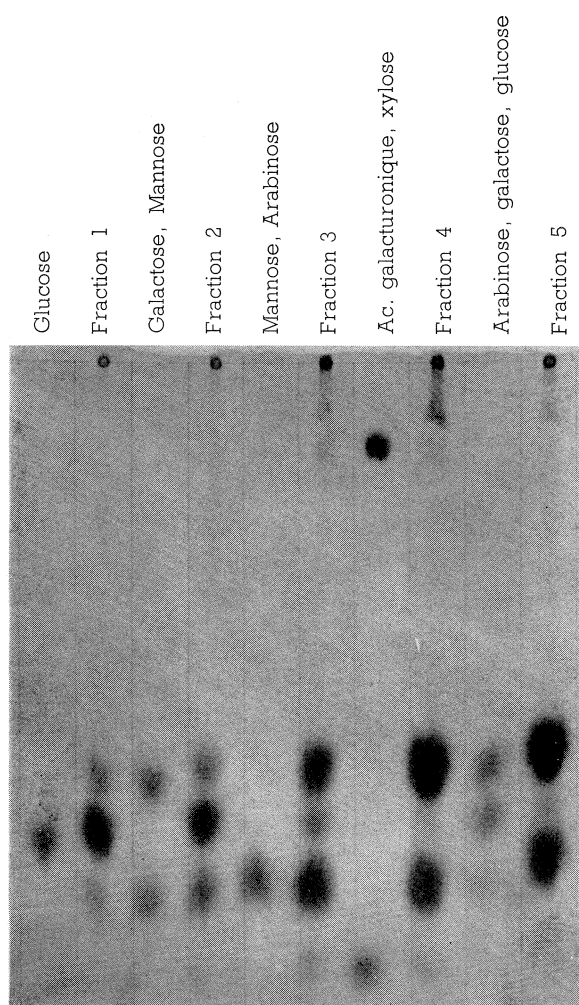


Fig. 6. — Chromatogramme des différents hydrolysats (solvant de séparation = acétate d'éthyle-eau-pyridine)

du café vert traité, dans la figure 7, p. 82 ; cette teneur est reportée également dans le tableau II.

Le comportement en cours d'extraction est spécifique pour chacun des monoses examinés, donc par extension pour les polymères dont il est le constituant. Le glucose, par exemple, voit sa teneur diminuer d'une fraction à l'autre, alors que celle du mannose subit une augmentation régulière. Le galactose, pour sa part, suit une courbe d'extraction assez particulière, comparable à celle des polysaccharides totaux. Quant à l'arabinose et au xylose, ils sont tous deux l'objet d'une solubilisation spécialement importante à 155°.

Oxydation enzymatique

Les réactifs fournis par la firme Boehringer ne permettent actuellement de déterminer que le saccharose, le glucose, le galactose et le fructose. L'évaluation du saccharose ne pourrait être effectuée que sur les extraits reconstitués et déféqués, dont la coloration propre est malheureusement trop importante pour assurer une analyse spectrophotométrique valable. La teneur des trois monoses dans les différents hydrolysats, qui est représentée dans la figure 8, p. 82, est également reproduite dans le tableau II.

Il importe de relever tout d'abord une similitude assez grande entre les valeurs déterminées par chromatographie préparative et celles établies par oxydation enzymatique. Les différences numériques que l'on pourrait signaler doivent être attribuées soit à la difficulté de localisation des zones (chromatographie), soit à l'emploi d'enzymes insuffisamment purifiées (oxydation enzymatique).

Signalons également le comportement identique en cours d'extraction du glucose et du fructose, bien que la proportion de ce dernier constituant soit régulièrement inférieure à celle du glucose. Ces monoses provenant tous deux de l'hydrolyse acide du saccharose, il semble évident que le fructose subit pendant ce traitement une transformation supplémentaire, conduisant à la création d'un dérivé possédant un cycle furannique.

CONCLUSIONS

L'application à un mélange de cafés verts d'une série d'extractions isothermiques, correspondant aux températures de 80, 105, 130, 155 et 180°, assure la mise en solution d'une partie des glucides présents. Ces glucides, qui représentent approximativement 20 p. 100 des matières solides du café initial, se répartissent à peu près également entre les oligosaccharides et les polysaccharides.

La première fraction d'extraction contient surtout du saccharose, dont la quantité évaluée correspond exactement aux valeurs mentionnées par WOLFROM (1)

et par COURTOIS (17). En plus du saccharose, on peut signaler de petites quantités de galactose, de mannose et d'arabinose, probablement sous forme de raffinose et de stachyose, signalés par COURTOIS (6) (7), d'arabinogalactanes et de traces de galactomannanes.

La deuxième et la troisième fraction, qui sont pondéralement des fractions de transition, comprennent également du saccharose et des arabinogalactanes, avec des traces de galactomannanes et de xylanes.

La quatrième fraction renferme principalement des arabinogalactanes, mais aussi des quantités appré-

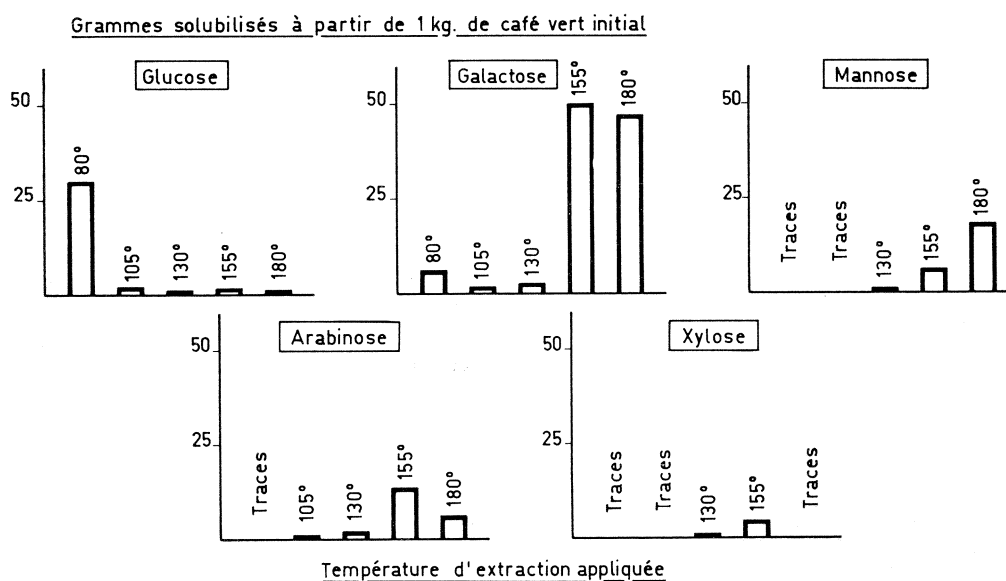


Fig. 7. — Solubilisation des hydrates de carbone évaluée par chromatographie sur papier.

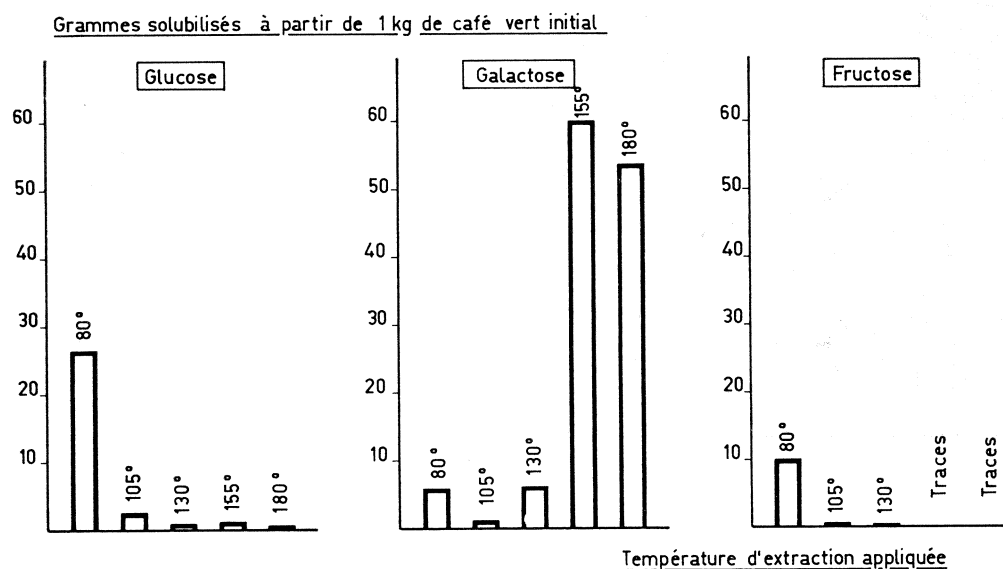


Fig. 8. — Solubilisation de certains hydrates de carbone évaluée par oxydation enzymatique

ciables de galactomannanes et de xylanes, ainsi que des traces de glucanes.

Quant au contenu glucidique de la cinquième fraction, il comprend à nouveau des arabinogalactanes et des galactomannanes, mais la proportion de ces derniers polymères est beaucoup plus importante que dans la fraction précédente. La présence de traces de glucanes et de xylanes est également à souligner.

La méthode de détermination du glucose, du fructose et du galactose par oxydation enzymatique a été appliquée avec succès aux hydrolysats acides des

fractions extraites. Cette méthode s'est montrée aussi précise que la méthode chromatographique et colorimétrique que nous utilisons habituellement, mais infiniment plus rapide, puisque le dosage d'une série de six échantillons peut être réalisé en moins d'une journée de travail.

Nous adressons tous nos remerciements à Mlle E. Cristofaro pour les précieux renseignements qu'elle nous a fournis concernant le dosage des monosaccharides.

Notre gratitude va également à Mlle M. Sticht, qui a exécuté avec soin la partie pratique de notre étude.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. M. L. WOLFROM, R. A. PLUNKETT et M. L. LAVER. — *J. Agric. Food Chem.*, **8**, (1) 58 (1960).
2. M. L. WOLFROM, M. L. LAVER et D. L. PATIN. — *J. Org. Chem.*, **26**, 4533 (1961).
3. M. L. WOLFROM et D. L. PATIN. — *J. Agric. Food Chem.*, **12**, (4) 376 (1964).
4. M. L. WOLFROM et D. L. PATIN. — *J. Org. Chem.*, **30**, 4060 (1965).
5. M. L. WOLFROM et L. E. ANDERSON. — *J. Agric. Food Chem.*, **15** (4) 685 (1967).
6. J. E. COURTOIS, F. PERCHERON et J. C. GLOMAUD. — *Café, Cacao, Thé*, **7** (3) 231 (1963).
7. J. C. GLOMAUD, F. PERCHERON et J. E. COURTOIS. — 2^e Colloque sur la chimie des cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Paris, 3-7 mai 1965. Institut Français du Café et du Cacao, Paris, 1966, p. 39.
8. W. ARNETH. — Thèse de doctorat. Bamberger Fotodruck, Rudolf Rodenbusch, 1967.
9. H. THALER et W. ARNETH. — 3^e Colloque sur la chimie des cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Trieste 2-9 juin 1967. ASIC, Paris, 1968, p. 127.
10. T. E. TIMELL, C. P. J. GLAUDEMANS et A. L. CURRIE. — *Anal. Chem.*, **28** (12) 1916 (1956).
11. M. A. JERMYN et F. A. ISHERWOOD. — *Biochem. J.*, **44**, 402 (1949).

PICTET (G.), MOREAU (A.). — **Les glucides du café vert : leur solubilisation à l'eau et leur évaluation quantitative.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 75-84, fig., tabl., réf.

A partir d'un mélange de cafés verts, les auteurs ont extrait cinq fractions correspondant à des températures croissantes (80, 105, 130, 155 et 180° C). Les glucides ainsi obtenus représentent 20 p. 100 des matières solides du mélange initial et sont constitués à peu près également d'oligosaccharides et de polysaccharides.

La composition des cinq fractions a été étudiée et une méthode d'oxydation enzymatique très rapide, et aussi précise que la méthode chromatographique et colorimétrique, est décrite.

PICTET (G.), MOREAU (A.). — **The glucides of green coffee, their solubilisation in water and their assay.** Quatrième Colloque international sur la Chimie des cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 75-84, tabl., fig., réf.

Starting with a mixture of green coffees, the authors have extracted five fractions corresponding to increasing temperature (80, 105, 130, 155 and 180° C). The glucides so obtained represent 20 % of the solid matter in the initial mixture and are constituted almost equally of oligo- and polysaccharides.

The composition of the five fractions has been studied and a very quick method of enzymatic oxidation, as accurate as the chromatographic and colorimetric methods, is described.

PICTET (G.), MOREAU (A.). — **Die Kohlenhydrate des Rohkaffees : ihre Auflösung im Wasser und ihre mengenmässige Bestimmung.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 75-84, fig., tabl., réf.

Aus einer Mischung von Rohkaffees haben die Autoren fünf Fraktionen extrahiert, die steigenden Temperaturen entsprechen (80, 105, 130, 155 und 180° C). Die auf diese Weise erhaltenen Kohlenhydrate stellen 20 % der Festkörper der Anfangsmischung dar und bestehen ungefähr gleichmässig aus Oligosacchariden und Polysacchariden.

Es wird die Zusammensetzung der fünf Fraktionen untersucht und eine Methode enzymatischer Oxydation beschrieben die ebenso schnell und genau ist wie die chromatographische und kolorimetrische Methode.

DISCUSSION

M. SMITH : Am I correct to assume that the amounts of carbohydrates extracted at each temperature are the additional amounts obtained by increasing the temperature in stages and are not the cumulative amounts extracted at each temperature ?

M. PICTET : The amounts of carbohydrates extracted are expressed separately for each temperature applied.

M. ADRIAN : Je voudrais demander à M. Pictet comment il isole ou estime les mélanoidines dont il a donné les teneurs sur un graphique. Je n'ai pas bien compris comment des mélanoidines passent en solution dans le café, alors que l'on considère que les mélanoidines sont insolubles, et j'aimerais avoir des précisions sur la nature de ces mélanoidines.

M. PICTET : Le fractionnement par précipitations successives des constituants du café, tel qu'il est schématisé en figure 1, a été développé par Wolfrom et Anderson (5). D'après ces auteurs, le traitement à l'acide formique concentré

d'un extrait de café rôti provoque la précipitation de substances fortement colorées, décrites comme « polymères de brunissement, à forte teneur en azote ». La séparation de ces polymères est effectuée pour faciliter la précipitation ultérieure des polysaccharides, puis des oligosaccharides, mais la fraction séparée est écartée sans subir d'examen plus approfondi.

Au cours de nos travaux, le procédé de fractionnement décrit par Wolfrom a été appliqué sans modification et, à chaque fois, une fraction colorée a été obtenue après addition d'acide formique concentré. Cette fraction, dont la teneur en azote est passablement élevée (4,3 à 9,4 p. 100 selon les échantillons) a été désignée sous le terme de « mélanoidines » dans notre exposé et n'a fait l'objet d'aucune étude complémentaire.

M. DE HEUS : Avez-vous étudié le poids moléculaire moyen des fractions et leur solubilité ?

M. PICTET : La précipitation à l'alcool méthylique assure la séparation des polysaccharides dont le degré de polymérisation est supérieur à 5 unités monose. Une détermination plus précise du poids moléculaire des différentes fractions glucidiques n'a pas été entreprise.

CARBONSÄURE – HYDROXY – TRYPTAMIDE IN ROHEN UND GERÖSTETEN KAFFEEBOHNEN

J. WURZIGER, U. HARMS

Chemische und Lebensmitteluntersuchungsanstalt im
Hygienischen Institut der Freien und Hansestadt, Hamburg

Die Samen des Kaffees bestehen zum grossen Teil aus einem von beiden Seiten eingerollten Nährgewebe. Der Querschnitt zeigt in der Mitte weitleumige Zellen, deren Wände stark verquollen und zum Teil aufgelöst sind. Am Rande bilden die Zellen eine Art Oberhaut, indem sie lückenlos aneinander stossen. Ihren Aussenwänden ist eine mässig entwickelte Kutikula aufgelagert, deren Bestandteile u. a. in die Stoffklasse der Wachsubstanzen eingeordnet werden.

Bei der Extraktion der Kaffeebohnen mit organischen Lösungsmitteln zur Herstellung coffeinfreien Kaffees werden normalerweise auch die Wachse von der Oberfläche sehr weitgehend abgelöst. Die Aussenauflagerungen machen etwa 0,2 % bis 2,0 % des Bohnengewichtes aus. Bei vorsichtiger Arbeitsweise lässt sich

das Kaffeewachs als knetbare, geruchlose und fast geschmacklose graue Masse gewinnen. Das in grösserer Menge bei der Entcoffeinierung von Rohkaffee anfallende Kaffeewachs ist dagegen meist von dunkler Farbe und von einem unangenehmen, brechenerregenden Geschmack. Produkte solcher Art wurden von G. DICKHAUT (1) erstmals säulenchromatographisch aufgetrennt. J. WURZIGER und F. GÜNTHER (2) konnten als Bestandteile von Kaffeebohnen Substanzen nachweisen, die in Gegenwart von Ammoniak oder Kalilauge mit 2,6-Dichlorchinonchlorimid (GIBBS Reagenz 3) grünlich-blaue bis tiefblaue Färbungen (Indophenole) ergaben. Es wurde daraufhin angenommen, dass es sich um phenol. Verbindungen handelte. Einen Einblick in die Verteilung dieser phenolischen Substanzen innerhalb der Kaffeebohne vermitteln mikroskopische Untersuchungen von Querschnitten durch Rohkaffeebohnen, wenn man die von G. DICKHAUT entwickelte Anfärbertechnik anwendet. Entsprechende Abbildungen wurden bereits früher gezeigt. Solchen Abbildungen ist zu entnehmen, dass die phenolischen Substanzen nur auf der Bohnenoberfläche als Bestandteile des Kutikularwachses anzutreffen sind. Mit der Entfernung der Aussenauflagerung — beispielsweise durch eine Lösungsmittelbehandlung — werden auch diese phenolischen Verbindungen beseitigt. Da die Substanzen infolge ihrer gleichmässigen Verteilung auf der Bohnenoberfläche als Indikator für die wachsartigen Auflagerungen angesehen werden können, ermöglicht die Indophenolbau-Reaktion gleichzeitig zu beurteilen, ob durch eine Bearbeitung des Kaffees die Kutikularschicht entfernt oder tiefgreifend verändert wurde.

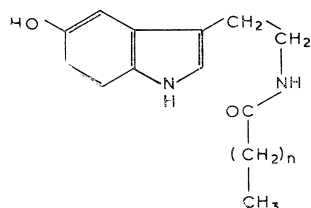
Die weitere Untersuchung dieser Substanzgruppe ergab nach ihrer Anreicherung und dünn-schichtchromatographischen Entwicklung eine Vielzahl von phenolischen Komponenten, von denen diejenige mit der grössten chromatographischen Wanderungsgeschwindigkeit mengenmässig sowohl bei Arabica — und Robusta — als auch bei Liberica-Kaffee überwog.

J. WURZIGER



Abbildung 1 ergibt einen Einblick in das chromatographische Verhalten der Substanzen auf Kieselgel-G-Schichten. Der Unterschied in den Mengen und die grosse Zahl der verschiedenen vorhandenen phenolischen Substanzen ist deutlich daraus zu entnehmen.

Bisher wurde erst die am stärksten vertretene Substanz (Substanz I) eingehenden Untersuchungen unterzogen. Nach den dünnschichtchromatographischen Trennungen war anzunehmen, dass es sich um eine einheitliche Verbindung handelte. Bei der Strukturanalyse 4) erwies sie sich jedoch als ein Gemisch aus verschiedenen Carbonsäure-5-hydroxy-Tryptamiden.



Zur Strukturaufklärung wurden die UV-, die IR- und die Kernresonanzspektroskopie herangezogen. Gaschromatographisch wurden nach der Amidspaltung Arachinsäure, Behensäure und Lignocerinsäure nachgewiesen. Nach Heranziehung der Massenspektrometrie ergab sich die folgende Zusammensetzung für das Gemisch :

- 48 % Arachinsäure-5-(hydroxy)-Tryptamid,
- 48 % Behensäure-5-(hydroxy)-Tryptamid,
- 4 % Lignocerinsäure-5-(hydroxy)-Tryptamid.

Diese mengenmässige Zusammensetzung scheint nach den bisherigen Untersuchungen bei allen Kaffeearten annähernd gleich zu sein. Die als Stoffgemisch von 3 Carbonsäure-5-(hydroxy)-Tryptamiden isolierte « Substanz I » lässt sich allgemein mit Phenolreagenzien nachweisen, die auf der Basis der Azo-Reaktion oder der Indophenol-Reaktion charakteristisch gefärbte Reaktionsprodukte liefern. Ferner lassen sich auch Indolreagenzien verwenden. Bekanntlich geben saure Aldehydlösungen mit Indolderivaten farbige Kondensationsprodukte. Besonders zu erwähnen ist, dass die « Substanz I » und die als « Begleitsubstanzen » zusammengefassten Verbindungen der gleichen Stoffgruppe mit abweichenden kleineren Rf-Werten mit allen angewandten Reagenzien die gleichen Färbungen ergaben. Allein daraus lässt sich schon ableiten, dass im chemischen Aufbau sehr ähnliche Substanzen — d. h. zumindest in Position 3 und 5 substituierte Indolderivate — vorliegen dürften. Danach kann also davon ausgegangen werden, dass die « Begleitsubstanzen » wie die « Substanz I » den Carbonsäure-hydroxy-Tryptamiden zugeordnet werden müssen. Die Untersuchungen über die Zusammensetzung sind aber noch nicht abgeschlossen. Daher soll darauf hier auch nicht weiter eingegangen werden.

In Tabelle 1 sind die hRf-Werte (= Rf-Werte \times 100) und einige Farbreaktionen angeführt, die für die Sub-

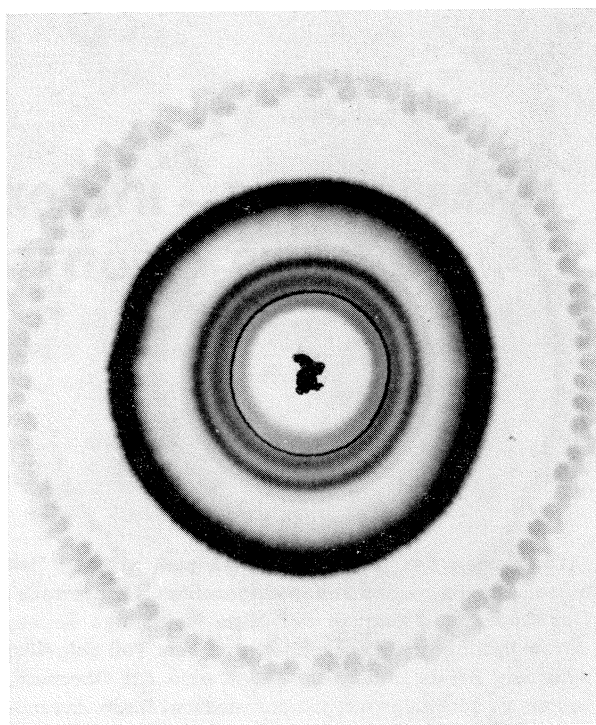


Abb. 1. — Chromatogramm von phenolischen Substanzen aus Kaffeewachs, umgesetzt mit 2,6-Dichlorchinonchlorimid nach der Entwicklung in dem System Chloroform/Äthanol (96 %) = 90/10.

stanzen erhalten wurden, nachdem sie mit zwei verschiedenen Fließmitteln chromatographisch aufgetrennt worden waren.

TABELLE 1

hRf-Werte und Farbreaktionen der « Substanz I » und der Begleitsubstanz

Bezeichnung	Substanz	Begleitsubstanzen
hRf-Wert im System CHCl ₃ /CH ₃ COOH (96 %) = 95/5.	22	6-17
hRf-Wert im System CHCl ₃ /CH ₃ CH ₂ OH (96 %) = 90/10	58	12-50
Farbreaktion mit Gibbs-Reagenz	blau	blau
— — van Urk-Reagenz	blau	blau
— — Procházka-Reagenz	gelb-orange-braun	gelb-orange-braun

Bei höherer Temperatur und gleichzeitiger Einwirkung von Sauerstoff werden die auf der Oberfläche verteilten Substanzen leicht zerstört. Äusserlich sind

die Veränderungen an der isolierten Substanz I an einer rasch zunehmenden Gelbbraunverfärbung zu erkennen. Unter längerer Hitzeeinwirkung neigen die Hydroxy-Tryptamide zur Verharzung.

Auf Grund der bisher hier gewonnenen Untersuchungsergebnisse besitzen die peripheren Zonen der Kaffeebohnen eine maximale oxydationshemmende Schutzwirkung. In ganzen, unzerkleinerten Kaffeebohnen liegt also offenbar ein Schutzmechanismus vor, der bei unbeschädigter Oberfläche Veränderungen insbesondere des Fettanteils im Kaffee-Endosperm von den Randzonen her verhindert. Aus der Empfindlichkeit der Kaffeewachssubstanzen gegenüber äusseren Einflüssen folgt aber auch, dass die rohen Kaffeebohnen unter besonders ungünstigen Bedingungen bereits während der Bearbeitung im Ursprungsland oder auf dem Wege zum Verbraucher Veränderungen erfahren, die sich in der Qualität der daraus hergestellten Röstkaffees niederschlagen können. Grundsätzlich kann es durch eine Gehaltsbestimmung der Carbonsäure-hydroxy-Tryptamide gelingen, durch Umwelteinflüsse verschiedenster Art oder durch gezielte Bearbeitung ausgelöste Veränderungen am Rohkaffee analytisch zu verfolgen, wobei allerdings zu berücksichtigen ist, dass die Bohnengrösse bzw. die Bohnenzahl pro Gewichtseinheit auf das Ergebnis von Einfluss sein können.

Auf die Arbeitsweise kann in diesem Zusammenhang nicht näher eingegangen werden. Sie wurde bereits an anderer Stelle (5) ausführlich beschrieben. Die quantitative Erfassung der phenolischen Substanzen erfolgt durch Auswertung der dünn-schicht-chromatographisch getrennten vorgereinigten Methanolauszüge der zu untersuchenden Kaffees. Die Trennung erfolgt unter Anwendung der Zirkulartechnik im geschlossenem System. Die getrennten Substanzen befinden sich, wie Abb. 1 bereits zeigte, auf konzentrischen Kreisen um den Startpunkt. Die Carbonsäure-5-hydroxy-Tryptamide (Substanz I) sowie die anderen phenolischen Komponenten (Begleit-substanzen) des Kaffeewachses erscheinen nach der Umsetzung mit 2,6 Dichlorchinonchlorimid als tiefblau gefärbte konzentrische Kreise um das Zentrum der Dünnschichtplatte. Der Indophe-

nolfarbstoff lässt sich aus dem Adsorbens mit wenig Benzylalkohol herauslösen. Die Farbintensität wird durch Messung der Extinktion im Spektralphotometer bei 580 nm ermittelt; gemessen wird gegen reinen Benzylalkohol. Aus der gemessenen Lichtabsorption wird der Gehalt an Carbonsäure-hydroxy-Tryptamiden mittels einer Eichkurve, die auf Substanz I bezogen wird, berechnet.

Obwohl die chemische Zusammensetzung der « Begleit-substanzen » bisher noch nicht restlos aufgeklärt ist, wurde im Rahmen der bisherigen Untersuchungen diese Arbeitsweise auch auf die Ermittlungen der Begleit-substanzen ausgedehnt und unter Zugrundelegung der Eichkurve für die Substanz I als Carbonsäure-hydroxy-Tryptamid ausgedrückt. Insofern gibt die ermittelte Menge an « Begleit-substanzen » nur einen ungefähren Anhaltspunkt. Jedoch gewähren die Zahlen einen recht guten Einblick in das Verhältnis von Substanz I zu den Begleit-substanzen, denen bei bestimmten Bearbeitungsweisen eine besondere Bedeutung zuzukommen scheint.

Einen Einblick in die Höhe des Hydroxy-Tryptamid-Gehaltes in Kaffeebohnen verschiedener Art und Provenienz gibt die Zusammenstellung in Tabelle 2.

Wenn davon ausgegangen wird, dass die Substanz I bei allen Kaffeesorten mengenmässig gleich oder ähnlich zusammengesetzt ist, dann liegt der Gehalt an diesen Carbonsäure-5-hydroxy-Tryptamiden nach den bisherigen Untersuchungen am häufigsten zwischen 60 mg und 100 mg bezogen auf 100 g Kaffeebohnen. Der Gehalt an « Substanz I » kann jedoch auch bis 150 mg betragen. Daraus ergeben sich rechnerisch etwa 20 mg bis 35 mg bzw. bis etwa 50 mg Serotonin (5-(OH)-Tryptamin) in jeweils 100 g Kaffeebohnen. Für die übrigen Substanzen mit kleineren Rf-Werten errechnen sich, wenn zunächst ebenfalls auf die « Substanz I » bezogen wird, häufig zwischen 20 und 50 mg Hydroxy-Tryptamide oder 6 mg bis 16 mg Serotonin in 100 g Kaffeebohnen. In Einzelfällen kann der Anteil an Begleit-substanzen in normalen Kaffeebohnen aber auch beträchtlich höher liegen wie aus Tabelle 1 zu ersehen ist.

TABELLE 2

Hydroxy-Tryptamide in Kaffees verschiedener Herkunft

Bezeichnung	Bohnenzahl pro 10 g	Hydroxy-Tryptamide in mg bezogen auf 100 g Kaffeebohnen		
		Substanz I	Begleit-substanz	Gesamt
Uganda-Arabica-Kaffee (Bugisha)	54	56,0	33,5	89,5
— -Robusta	58	61,5	18,5	80,0
— — poliert	78	43,5	4,5	47,5
Costarica-Arabica-Kaffee	60	46,5	20,0	66,5
— — —	60	69,0	30,0	99,0
— — —	n. b.	144	90,0	234,0

TABELLE 3

Hydroxy-Tryptamide in Kenya-Kaffees verschiedener Standards (Ernte 1968)

Bezeichnung u. Sortierung	Standard	Bohnenzahl pro 10 g	Farbe d. Bohnen	Qualität	Hydroxy-Tryptamide mg in 100 g Kaffee		
					Subst. I	Begleit- subst.	Gesamt- subst.
Kenya-Kaffee B	2	60	gräulich-grün	gut	66,0	23,0	89,0
— — B	3	60	grünlich	ausr.-gut	63,5	24,0	87,5
— — B	4	60	grau-grün-bräun- lich	FAQ	65,0	22,5	87,5
— — B	5	60	bräunlich	klein-ausr.	68,5	12,0	80,5
— — B	6	60	blass braun	klein	45,0	12,5	57,5
— — B	7	60	blass braun	sehr klein	37,5	7,5	45,0

Wird also der Gehalt an « Begleitstoffen » — ausgedrückt als « Substanz 1 » — noch mit berücksichtigt, so findet man Werte zwischen 80 und 180 (maximal bisher 240) mg Gesamthydroxy-Tryptamide pro 100 g Rohkaffee.

In Tabelle 3 sind Untersuchungsergebnisse zusammengestellt, die an frischen, rohen Kenya-Kaffees verschiedener Klassifizierung gewonnen wurden. Die Aufgliederung der Kaffees gleicher Sortierung in verschiedene Standardtypen wurde im Ursprungsland vorgenommen, wobei die Farbe der Bohnen als Massstab diente. Nicht alle Rohkaffees sind in der BR Deutschland allgemein handelsüblich.

Die angeführten Rohkaffees unterscheiden sich im Genusswert sehr eindeutig. Für die Untersuchung und die Beurteilung der Untersuchungsergebnisse war günstig, dass 60 Kaffeebohnen auf 10 g entfielen. Die Farbe der Rohkaffees reichte von gräulich-grün bis braun. Hieraus lässt sich ableiten, dass an den Rohkaffees bereits Veränderungen eingetreten waren. Dabei waren oxydative Veränderungen an den Substanzen mit Hydroxy-Tryptamid-Struktur nicht auszuschliessen. In 100 g gräulich-grünen bis bräunlichen Kaffeebohnen der Standards 2-5 waren nach den durchgeführten Untersuchungen insgesamt zwischen 89,0 u. 80,5 mg Hydroxy-Tryptamide enthalten. Dagegen waren in den blassen bzw. braunen Rohkaffees der Standards 6 und 7 mit insgesamt 57,5 und 45,0 mg bezogen auf 100 g Rohkaffees nur verhältnismässig geringe Mengen solcher Hydroxy-Tryptamide vorhanden.

Nach diesen Untersuchungsergebnissen kann davon ausgegangen werden, dass bräunlich verfärbte Rohkaffees weniger Hydroxy-Tryptamide enthalten als frischfarbige Rohkaffees gleicher Provenienzen. Braun verfärbte Rohkaffees sind damit nicht allein auf Grund der eingetretenen Verfärbung und der sich daraus ergebenden geschmacklichen Beeinträchtigung als nicht mehr « einwandfrei » und frisch zu beurteilen, sondern dies lässt sich auch aus der geringeren Menge an Hydroxy-Tryptamiden ableiten. Dies gilt nicht nur für

alte und abgelagerte Rohkaffees, sondern auch für bearbeitete Rohkaffees. Von den vielen Veredelungsmethoden, die im Laufe der Zeit vorgeschlagen bzw. angewandt wurden, haben Bearbeitungsprozesse die grösste Bedeutung und Verbreitung erlangt, bei denen Rohkaffees der Einwirkung von Wasserdampf ausgesetzt werden. Verfahren dieser Art entsprechen in den Bearbeitungsbedingungen und Anlagen mehr oder minder weitgehend dem LENDRICH-Verfahren (6). Bei den üblichen Bearbeitungsverfahren mit Wasserdampf kommt es aber nicht allein auf die Wärmeeinwirkung auf den Rohkaffee an, sondern es wird oftmals gleichzeitig versucht, Oberflächensubstanzen abzutragen.

In Tabelle 4 sind Untersuchungsergebnisse zusammengestellt, die aus handelsüblichen, gedämpften Rohkaffees gewonnen werden.

TABELLE 4

Hydroxy-Tryptamide in gedämpften Rohkaffees

Bezeichnung	Hydroxy-Tryptamide in mg/100 g		
	Subst. I	Begleit- subst.	Gesamt- subst.
Rohkaffee, gedämpft	75,5	19,5	95,0
— —	55,5	29,5	85,0
— —	56,0	15,0	71,0
— —	41,5	11,1	52,6

In den gedämpften Rohkaffees, wie sie z. Zt. in der Bundesrepublik Deutschland angetroffen werden, liegen die Gehalte an Hydroxy-Tryptamiden sehr unterschiedlich. Erkennbare Unterschiede gegenüber handelsüblichen « normalen » Rohkaffees konnten nicht festgestellt werden. Bisher konnte diesen Substanzen bei der Auswahl der Rohkaffees, die einer Bearbeitung unterzogen werden sollten, keine Beachtung geschenkt

werden, da über die Substanzen selbst sowie über ihr Verhalten unter der Einwirkung von Luft und Wärme noch zu wenig bekannt war, und ebenfalls die analytische Bestimmung auch noch gewisse Schwierigkeiten bereitete.

Am auffallendsten sind die Bearbeitungseinflüsse auf den Gehalt an Hydroxy-Tryptamiden bei koffeinfreien Rohkaffees. Bei der Lösungsmittelextraktion werden nämlich auch die Wachssubstanzen von der inneren Oberfläche mehr oder minder vollständig abgelöst, die einer mechanischen Bearbeitung allgemein nicht zugänglich sind. In Tabelle 5 sind Untersuchungsergebnisse zusammengestellt, die an handelsüblichen koffeinfreien Rohkaffees gewonnen wurden.

TABELLE 5

Hydroxy-Tryptamide in koffeinfreien Rohkaffees

Bezeichnung	Bohnenzahl pro 10 g	Hydroxy-Tryptamide in mg/100 g		
		Subst. I	Begleit-subst.	Gesamt-subst.
Rohkaffee, koffeinfrei	60	16,0	4,0	20,0
—	60	21,5	4,0	25,5
—	60	19,5	2,0	21,5
—	60	26,0	4,0	30,0
—	60	2,0	1,0	3,0

Nach Untersuchungen, die in den letzten Jahren an koffeinfreien Rohkaffees vorgenommen wurden, liegen in handelsüblichen Erzeugnissen häufig zwischen 20 und 30 mg Hydroxy-Tryptamide pro 100 g Rohkaffee vor. Unter den z. Z. üblichen Entkoffeinierungsbedingungen wird damit oftmals keine sehr vollständige Ablösung der phenolischen Substanzen erreicht. Diese Restmengen liegen aber wesentlich tiefer als in normal gedämpften Rohkaffees. Es muss jedoch noch erwähnt werden, dass auch koffeinfreie Kaffees angetroffen werden, in denen nur noch kleinste Mengen an Hydroxy-Tryptamiden vorhanden sind.

Bekanntlich werden die Kaffeebohnen unter den allgemein üblichen Röstbedingungen merkbar verändert. Die Zerstörungsquote der phenolischen Oberflächensubstanzen hängt dabei wesentlich von den Röstbedingungen, insbesondere der Rösttemperatur und Röstzeit ab. In Tabelle 6 sind Untersuchungsergebnisse zusammengestellt, die an normalen und behandelten Röstkaffees gewonnen wurden. Ermittelt wurde der Gehalt an Hydroxy-Tryptamiden.

Durch das Rösten erfolgt die Abnahme an Hydroxy-Tryptamiden in koffeinfreien Kaffees nach der gleichen Gesetzmässigkeit wie in gedämpften und unbehandelten Rohkaffees. Dabei bestehen im Gehalt an Hydroxy-Tryptamiden zwischen Röstkaffees aus gedämpften und unbehandelten Rohkaffees keine signifikanten Unterschiede. Solche waren aus den bereits genannten Grün-

den bisher auch kaum zu erwarten. In Tabelle 7 sind Untersuchungsergebnisse zusammengestellt, die an Röstkaffees aus mechanisch abgeriebenen Rohkaffees gewonnen wurden.

Nach diesen Beispielen ist — unabhängig von der Ausgangsmenge — durch das Rösten mit einer Abnahme von etwa 50 % der gesamten im Rohkaffee vorliegenden Hydroxy-Tryptamide zu rechnen, sofern auf etwa vergleichbare Röstgrade abgestellt wird. Durch sehr starkes Rösten können die Hydroxy-Tryptamide noch viel weitgehender abgebaut werden.

Für den Verbraucher sind bekanntlich nur die Kaffeesubstanzen interessant, die mit heissem Wasser unter den üblichen Aufgussbedingungen das Getränk ergeben. Ob Röstkaffee dabei günstig oder schlecht ausgenutzt wird, ob starke oder schwache Getränke bereitet werden, bestimmt somit ausschliesslich der Verbraucher. Mit der Art der Getränkebereitung hängt jedoch die Art der z. B. phenolischen Substanzen sehr eng zusammen, die in das Getränk gehen.

Aus Kaffeewachs isolierte Carbonsäure-5-(hydroxy)-Tryptamide wurden auf Kieselgel (Korngrösse 0,2 bis 0,5 mm) aufgebracht und mit destilliertem Wasser etwa 10 Minuten gekocht. Der « Aufguss » wurde heiss filtriert und nach dem Abkühlen mit Äther ausgezogen. In der Ätherphase wurden neben den unveränderten Hydroxy-Tryptamiden mehrere phenolische Substanzen mit verschiedenen Rf-Werten nachgewiesen. Diese an Modellversuchen gemachten Beobachtungen lassen sich auch auf Kaffeetränke übertragen. Dabei scheinen die verschiedenen Spaltprodukte oder Umlagerungsprodukte der Hydroxy-tryptamide in enger Relation zum Aufgussverfahren zu stehen und die Hydroxy-Tryptamide auch einen Einfluss auf die Bekömmlichkeit der Kaffeeaufgüsse zu haben. Mit diesen Prüfungen sind wir z. Zt. beschäftigt.

TABELLE 6

Hydroxy-Tryptamide in verschiedenen Röstkaffees

Bezeichnung	Bohnenzahl pro 10 g	Hydroxy-Tryptamide in mg/100 g		
		Subst. I	Begleit-subst.	Gesamt-subst.
Röstkaffee, normal	60	70	54	124,0
—	60	69	21,5	90,5
—	60	102	34,0	136,0
—	60	58	5	63,0
Röstkaffee, gedämpft	60	47,0	10,0	57,0
—	60	67,0	18,0	85,0
—	60	75,0	19,0	94,0
—	60	63,5	17,0	80,5
—	60	55,5	12,5	67,5
Röstkaffee, koffeinfrei	60	20,0	6,8	26,8
—	60	9,0	3,8	12,8
—	60	4,5	0,0	4,5

TABELLE 7

Hydroxy-Tryptamide in Röstkaffees aus mechanisch bearbeiteten Rohkaffees

Bezeichnung	Abrieb %	Hydroxy-Tryptamide im Rohkaffee (mg/100 g)	Röstzeit Min.	Rösttemp. °C	Hydroxy-Tryptamide im Röstkaffee (mg/100 g)
Costarica	0,0	237,0	6	180	130,5
—	0,5	177,0	6	180	74,0
—	1,1	154,0	8	170	76,0
—	2,4	133,0	11	160	70,5
—	3,4	100,0	6	185	56,5

LITERATURVERZEICHNIS

- DICKHAUT, G. — « Über phenolische Substanzen in Kaffee und deren analytische Auswertbarkeit zur Kaffeewachsbestimmung ». Dissertation Universität Hamburg, 1966.
- WURZIGER, J. u. F. GÜNTHER. — Mitteilungsblatt GDCh-Fachgr. *Lebensmittelchemie und gerichtliche Chemie*, 14 (1960), 181.
- GIBBS, H. D. — *J. biol. Chemistry*, 72 (1927), 649.
- HARMS, U. — « Beiträge zum Vorkommen und zur Bestimmung von Carbonsäure-5-hydroxy-Tryptamiden in Kaffeebohnen ». Dissertation Universität Hamburg, 1968.
- HARMS, U. u. J. WURZIGER. — *Kaffee- und Teemarkt*, 1969, 19, 6, 6-9, 7, 6-9.
- LENDRICH, P., E. WEMMERING u. O. LENDRICH. — « Verfahren zum Verbessern von Kaffee ». DRP 576 515 Kl. 53 d/2.02 (1927).

WURZIGER (J.), HARMS (U.). — **Les hydroxytryptamides des graines de cafés verts et torréfiés.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 85-91, fig., tabl., réf.

Les constituants de la couche cireuse du café extractibles par le méthanol peuvent être séparés, par chromatographie sur couche mince, en un constituant principal (substance I) et en constituants annexes (substances accompagnatrices). Ils sont détectés par les réactifs de l'indol (sol. acides d'aldéhydes) ou des phénols (2,6-dichlorquinonechlorimide).

L'analyse structurale de la substance I isolée par chromatographie a fourni 48 p. 100 de 5-hydroxytryptamide de l'acide arachique, 48 p. 100 de celle de l'acide béhénique et 4 p. 100 de celle de l'acide lignocérique. La structure a été déduite des résultats des analyses par spectroscopie UV, IR, de résonance magnétique nucléaire, chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse.

Une méthode de détermination reposant sur l'estimation colorimétrique des

WURZIGER (J.), HARMS (U.). — **The hydroxytryptamides of green and roasted coffee beans.** Quatrième Colloque international sur la Chimie des cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 85-91, fig., tabl., réf.

The constituents of the waxy layer of coffee extractable with methanol may be separated by thin layer chromatography into one main constituent (substance 1) and annexed constituents (accompanying substances). They are detected by the indol reagents (acid solutions of aldehydes) or phenols (2,6-dichloroquinone-chlorimide).

The structural analysis of substance 1 isolated by chromatography has supplied 48 % of 5-hydroxy-tryptamide of arachic acid, 48 % of that of behenic acid 4 % of that of lignoceric acid. The structure has been deduced from the results of UV and IR spectroscopical analyses, from nuclear magnetic resonance, from gas chromatography and mass spectrometry.

A determination method based on colorimetric estimation of the hydroxy-

WURZIGER (J.), HARMS (U.). — **Carbonsäure-hydroxytryptamide in rohen und gerösteten Kaffeebohnen.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 85-91, fig., tabl., réf.

Die mit Methanol aus der Kaffeewachsschicht herauslösbaren Substanzen lassen sich dünnstichtchromatographisch in eine Hauptkomponente (Substanz I) und mehrere Nebenkomponten (Begleitungsstanzten) auf-trennen. Ihre Detektion erfolgt mit Indol-Reagenzien (sauren Aldehydlösungen) oder Phenolreagenzien (2,6-Dichlorchinonchlorimid).

Die Strukturanalyse der chromatographisch einheitlichen Substanz I ergab folgende Zusammensetzung :

- 48 % Arachinsäure-5-hydroxy - tryptamid,
- 48 % Behensäure-5-hydroxy - tryptamid und,
- 4 % Lignocerin säure-5-hydroxy-tryptamid.

Als analytische Untersuchungs-methoden bei der Strukturklärung wurden die UV-, die IR- und die Kernresonanzspektroskopie, die Gaschromatographie und die Massenspektrometrie herangezogen.

Die Struktur der Begleitstanzten konnte noch nicht vollständig auf-geklärt werden. Nach bisherigen Untersuchungen liegt ihnen jedoch eben-

hydroxytryptamides transformées en indophénols par le réactif de Gibbs (2-6 dichloroquinonechlorimide) a été mise au point.

La teneur en substance 1 des cafés verts frais inaltérés varie de 50 à 100 mg pour 100 g. La teneur en hydroxytryptamides totales (substance 1 + s. l) oscille entre 80 et 180 mg pour 100 g. Ces substances étant réparties dans la zone marginale du grain, leur teneur est proportionnelle à la surface des grains et au nombre de graines par unité de poids. Par suite de la forte sensibilité des hydroxytryptamides à la lumière, l'oxygène et la chaleur, ces substances conviennent très bien à l'estimation de l'état de fraîcheur des cafés verts commerciaux et à l'examen analytique des procédés d'amélioration.

tryptamides transformed into indophenols by Gibbs' reagent (2-6 dichloroquinone-chlorimide) has been perfected.

The unaltered fresh green coffee content of substance 1 varies from 50 to 100 mg per 100 g. The content of total hydroxytryptamides (substance 1 + accompanying substances expressed as substance 1) oscillates between 80 and 180 mg per 100 g. These substances being distributed in the marginal zone of the bean, their content is proportional to the surface of the beans and to the number of beans per weight unit. On account of the high sensitivity of the hydroxytryptamides to light, oxygen and heat, these substances are particularly suitable for the estimation of freshness of commercial green coffees and for the analytical examination of improvement processes.

falls ein-zumindest in Position 3 und 5-substituiertes Indolgerüst zugrunde.

Eine Bestimmungsmethode wurde ausgearbeitet, die auf einer kolorimetrischen Auswertung der mit 2,6-Dichlorchinonchlorimid (Gibbs' Reagenz) zu Indophenolen umbesetzten Hydroxy-Tryptamide beruht.

Frische, einwandfreie Rohkaffees weisen einen Gehalt von 50-100 mg Substanz 1 in 100 g auf. Der Gehalt an Gesamt-Hydroxy-Tryptamiden (Substanz 1 + Begleitsubstanzen, ausgedrückt als Substanz 1) schwankt zwischen 80 und 180 mg pro 100 g Kaffee.

Da sich die Substanzen nur in den Randzonen der Bohnen befinden, ist die ermittelte Menge proportional der Grösse der Bohnenoberfläche bzw. der Anzahl der Bohnen pro Gewichtseinheit. Die Hydroxy-Tryptamide eignen sich auf Grund ihrer Empfindlichkeit gegenüber Licht, Sauerstoff und Wärme zur Beurteilung des Frischeszustandes handelsüblicher Rohkaffees sowie zur analytischen Überprüfung vorgenommener Veredelungsverfahren.

TRIAGE COMPONENTS IN COFFEE

C. P. NATARAJAN, A. BALACHANDRAN, S. SHIVASHANKAR

Central Food Technological Research Institute, Mysore, India

The production of desired quality beans from the coffee fruit is influenced by various factors. Agronomical, physiological and technological variations influence the quality. Due to the above, the beans inside the fruit are not always uniform in size and shape, etc. The modern processing industry grades beans by colour, air-classification, hand-sorting and garbling, and recently by the use of electronic colour graders. The separations made thereby are graded differently by different countries. The components which cannot be classified as flats or peaberry are generally classified as Triages which do not include blacks, bits and browns. The percentage of various malformed defective beans, beans with smaller sizes, over-sized beans, etc., also varies depending upon various factors. These factors make it difficult to define triages objectively. The International Standards Organization, while drafting the vocabulary of coffee and its products, has defined Triage Residues in coffee as extraneous matters, other impurities and defective beans removed by triage, the definition of

which is not clearly detailed. The Indian Coffee Board in their specifications for different grades for coffee mainly based on size of the beans, defined Triages as those which do not have any sieving requirements and also prescribed the permissible percentages of these triages in different varieties of coffee. The Indian Standard Specification for Grading for Green Coffee, IS : 3581-1966, has also described grade designations of green coffee and their requirements along with the definitions for Triages and their permissible percentages of these triages in other grades.

These triages include broken, withered, spotted, elephant, small, discoloured, malformed, pales and pulpercuts either in flats or in the peaberries and shall be free from blacks, stinkers and sours. The different aspects of quality evaluation of coffee have been reviewed by us earlier (1). Scientific data on chemical composition as well as the roasting characteristics of the triage components are lacking.

MATERIALS AND METHODS

a) From bulk coffee, the different triage components which are described in the enclosed photographs, have been separated and sent to us by Coffee Research Station, Coffee Board, Balehonnur for examination. Fourteen samples were analysed. The raw samples were ground for analysis.

b) **Roasting** : The samples were roasted in a sample electric coffee roaster to medium roast and powdered according to methods described earlier (2).

c) **Analytical methods** : The total soluble solids in the raw coffee was determined by JONES Method (3), chlorogenic acid by the method of IYENGAR et al (4),

total sugars by the method of NATARAJAN et al (5) and other determinations were done by A. O. A. C. methods. The roasting loss, swelling ratio, density and γ -value in the roasted samples were carried out according to methods described earlier (2). The cup test in the roasted samples was carried out as per the method described in Indian Standard Specification for Roasted and Ground Coffee : IS : 3077-1965, by preparing 5 % w/v brew by steeping for 6 minutes and noting the aroma and taste.

The results on the proximate composition of the samples are given in Table I, along with normal grades.

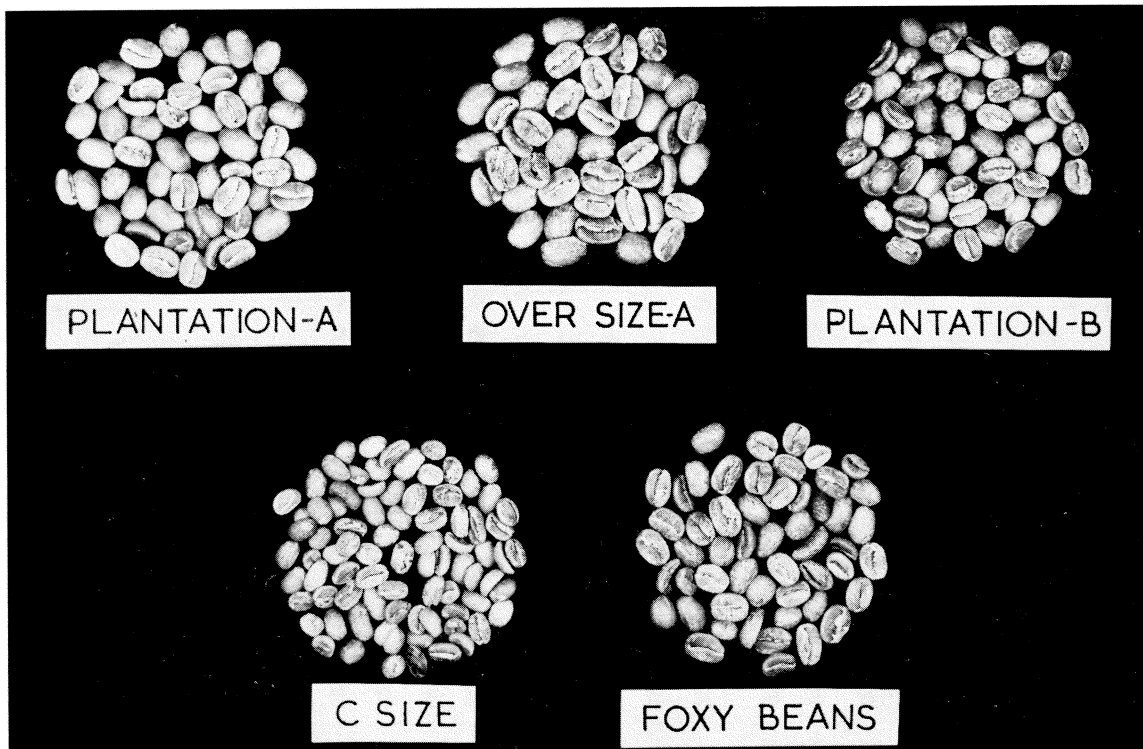


Fig. 1

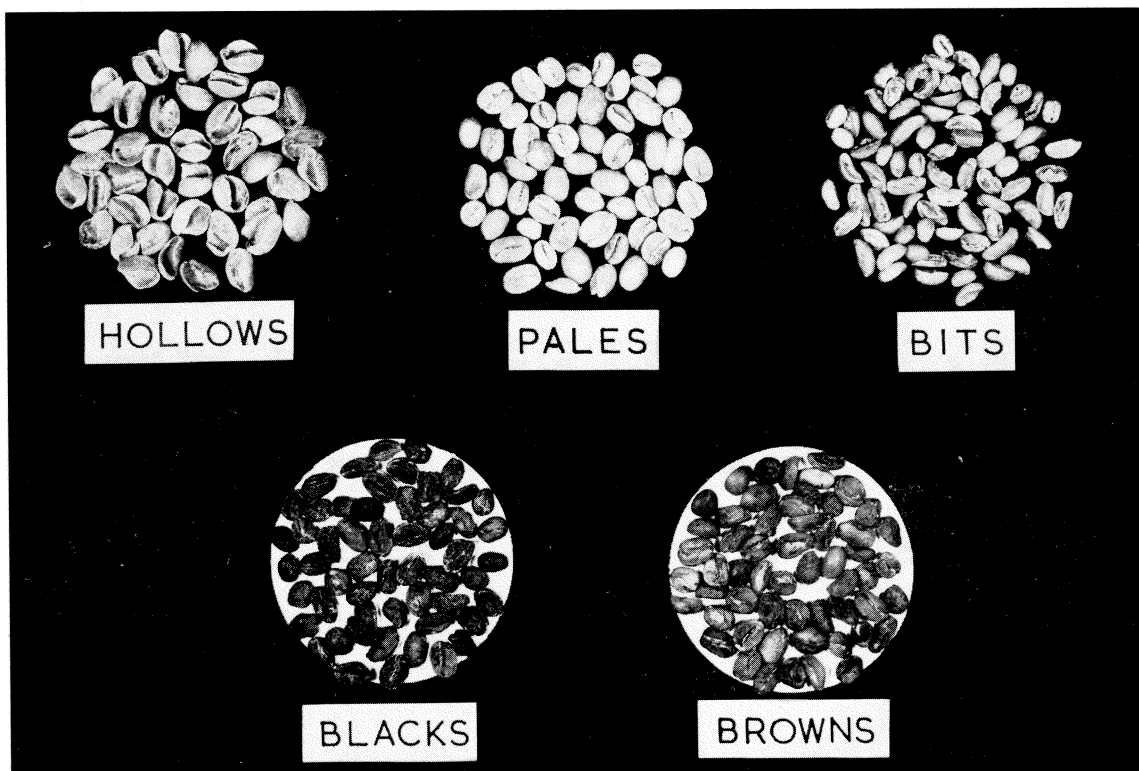
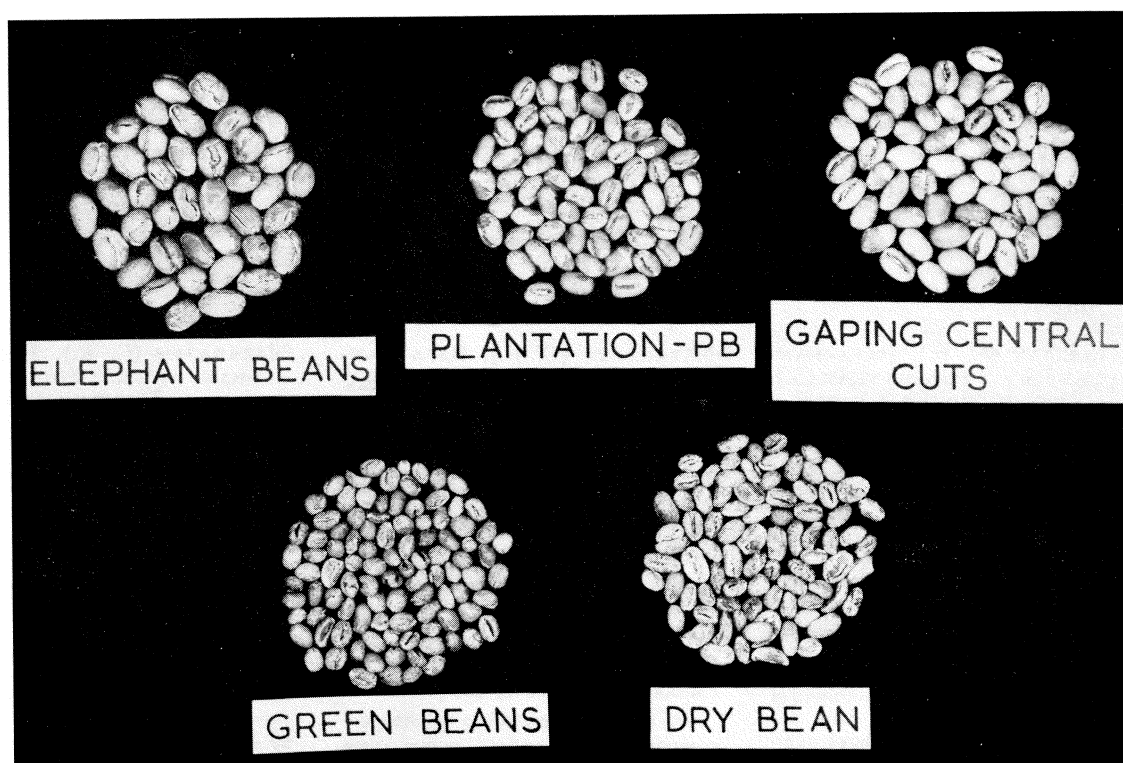


Fig. 2

TABLE I
Chemical Analysis of Raw Coffee from Balehonnur
 (All values in percentages)

Constituents	TRIAGES														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Moisture	10.30	10.59	10.19	10.23	10.30	10.76	10.59	10.62	9.86	9.04	9.07	9.46	9.57	9.14	
Density g/cm ³	1.18	1.19	1.17	1.10	1.08	1.11	1.12	1.13	1.12	1.12	1.17	1.18	1.19	1.13	
Total Ash	3.95	3.91	3.74	4.05	3.45	3.94	4.09	4.11	4.31	4.14	4.17	4.16	4.09	4.03	
Alkalinity cm ³ of 1N HCl/100g	42.72	44.43	41.27	46.04	40.70	42.08	43.84	42.39	43.84	42.48	37.65	41.34	40.24	41.67	
Water insoluble Ash	0.76	0.64	0.88	0.71	0.55	0.61	0.54	0.62	0.85	0.65	0.87	0.84	0.81	0.82	
Water soluble Ash	3.19	3.27	2.86	3.34	2.90	3.33	3.55	3.49	3.46	3.49	3.30	3.32	3.28	3.21	
Chlorogenic Acid	6.07	6.12	6.77	6.39	6.41	5.66	6.11	6.47	6.53	6.15	6.12	6.18	6.20	5.70	
Caffeine	1.22	1.12	1.20	1.22	1.21	1.19	1.23	1.23	1.24	1.22	1.22	1.23	1.26	1.26	
Total Nitrogen	3.30	2.99	2.84	2.99	2.82	2.69	2.89	2.89	2.88	2.70	2.86	2.77	2.67	2.66	
Total sugars (2.5 hrs hydrolysis with 1 N HCl 98 °C) ...	34.87	35.15	34.69	34.81	34.43	34.55	35.86	34.16	32.86	33.59	32.80	32.15	32.79	32.51	
Total soluble solids	26.73	28.94	28.76	25.68	28.96	28.36	26.02	28.97	29.59	28.05	29.56	29.77	30.24	28.33	
Roasting Loss	17.00	16.00	16.00	17.00	15.00	17.00	16.00	15.00	16.00	16.00	16.00	16.00	15.00	16.00	
Swelling Ratio	1.84	1.95	1.93	1.71	1.72	1.75	1.77	1.78	1.91	1.82	1.78	1.89	1.84	1.82	
Density g/cm ³	0.52	0.52	0.51	0.52	0.55	0.51	0.52	0.53	0.49	0.52	0.55	0.52	0.55	0.52	
Y-value	5.50	6.30	6.40	6.30	5.70	5.80	6.40	7.80	5.00	5.00	5.30	5.80	7.10	5.00	
Cup-test	Good	Satisfactory	Satisfactory	Fruity	Satisfactory	Less aroma	Less strength Poor roast	Uneven roast raw taste	Satisfactory	Satisfactory	Satisfactory but raw taste	Raw taste	Woody taste Uneven roast	Satisfactory	Samples

Fig. 3



RESULTS AND DISCUSSION

No significant variation in chemical composition of different triage components was noticed in the samples analysed. More scientific data should be collected on these triage components which is generally considered inferior coffee. This need not necessarily be true on cup quality basis. The data collected so far indicate that no significant variation in chemical composition of different triage components is noticed. However, differences in the roasting behaviour are evident. In view of the above, there seems to be need of gathering further data on various other aspects of these triage components with a view to understand their role in the cup quality of coffee blends so that all triage components need not be dubbed scientifically as bad or lower quality.

The cherry coffee from greens, cherry coffee from pulper floats, broken beans and bits, pales, beans with defection in endosperm development, swell less than

other samples during roasting. The bean samples with defection in endosperm development and triangular beans gave a powder similar to light roast under the same conditions where other samples gave medium roast powder.

This note has shown the necessity of more scientific study on such lesser known grades of coffee.

ACKNOWLEDGMENT

This programme of work has been carried out under the Coffee Research Scheme of the Coffee Board at this Institute. Authors' thanks are due to Coffee Board, and the Director of Coffee Research for sending the samples.

REFERENCES

1. NATARAJAN, C. P. and GOPALAKRISHNA RAO, N. — Quality Evaluation of Coffee, *Indian Coffee*, 1967, vol. XXII, n° 3.
2. NATARAJAN, C. P., NAIR, R. B., GOPALAKRISHNA RAO, N., VIRAKTAMATH, C. S., BHATIA, D. S., SANKARAN, A. N. — Studies on Roasting of Coffee, *J. sci. industr. Res.*, 1960, vol. 19A, n° 1, pp. 32-37.
3. COX, H. E. — Chemical Analysis of Foods, 1946, J. & A. Churchill & Co., London, p. 128.
4. IYENGAR, J. R., NATARAJAN, C. P., BHATIA, D. S. — *Bull. cent. Fd. technol. Res. Inst.*, 1955, 4, 259.
5. NATARAJAN, C. P., KANTHARAJ Urs, BHATIA, D. S. — *J. Ind. Chem. Soc. industr. Edn.*, 1955, 18, 9.

NATARAJAN (C. P.), BALACHANDRAN (A.), SHIVASHANKAR (S.). — **Composition des « triages » de café.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 92-96, fig., tabl., réf.

Les auteurs donnent la composition chimique des éléments qui constituent les « triages » de café ainsi que les caractéristiques à la torréfaction.

Ils n'ont pas relevé de différences significatives dans la composition chimique des triages par rapport à celle des autres qualités, mais ont trouvé quelques différences dans les caractéristiques à la torréfaction. Une étude plus poussée de ces types de café apparaît nécessaire.

NATARAJAN (C. P.), BALACHANDRAN (A.), SHIVASHANKAR (S.). — **Triage components in coffee.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 92-96, fig., tabl., réf.

The chemical composition of the triage components along with their roasting characteristics are given.

No significant variation in chemical composition was noticed except some difference in roasting characteristics. Need of further study of these types of coffee is stressed.

NATARAJAN (C. P.), BALACHANDRAN (A.), SHIVASHANKAR (S.). — **Zusammensetzung der Kaffee-Auslese.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 92-96, fig., tabl., réf.

Die Autoren geben die chemische Zusammensetzung der Stoffe, welche die Kaffee-Auslese, bilden sowie die Merkmale bei der Röstung bekannt.

Sie stellen keinen signifikanten Unterschied in der chemischen Zusammensetzung der Auslesen im Vergleich zu denen der anderen Qualitäten fest, fanden dagegen einige Unterschiede in den Merkmalen bei der Röstung. Eine eingehendere Prüfung dieser Kaffeemuster scheint notwendig.

COMMENTAIRE

M. LOCKHART : This paper gives you an idea of why the ISO committees on definitions have so much difficulty. Triage is one of those things which create a great deal of confusion in the minds of people who attend these meetings and try to convey their own impression of what the word means. Triage is only one of the great many words which have afforded several problems of definition.

In view of what has just been said, I think that were included in triage all the defects that we were trying to define a little more carefully ; it would not be surprising if triage material did give inferior beverage characteristics.

Dr. Natarajan seems to feel that we should subdivide triage into those which do not have any effect and those that would do. This will probably be a task for the next few years if we can clarify the situation.

M. WOOTTON : Confusion over the meaning of a « triage » bean probably arises from the similarity between the two origins of the word, the French verb trier (to sort) and the English word triangle. It is likely that India sorts its coffee in a manner similar to that employed in E. Africa where the triage grade of coffee contains many beans of a triangular cross-section. These beans are the result of the development of three seeds instead of the normal two within a coffee cherry. They possess an appearance similar to normal beans and provide the same liquor. It would therefore not be surprising that these triages differ little in chemical composition from normal good beans. Elsewhere in the world, triages are believed to be one of the poorest grades by a sorting processing, containing many undesirable discoloured damaged remnants of coffee beans along with foreign matter.

NEW AND RAPID METHOD FOR THE ANALYSIS OF CAFFEINE IN COFFEE PRODUCTS

T. L. FAZZINA *

Maxwell House Division, General Foods Corporation

INTRODUCTION

I welcome this opportunity to report to this association a recent innovation in the measurement of caffeine in coffee products. In the G. F. scientific community, we are continually striving to devise methods of analyses which give us greater confidence in achieving quality specifications. Rapid and automated caffeine analysis represents one of our successful efforts in evaluating coffees. The coffees I refer to include green, roasted and ground, soluble and decaffeinated products. Being a major coffee company, our business is based on producing coffee products for the consumer which is of uniformly high quality. In order to insure maximum consumer satisfaction, physicochemical analysis within every step of our operation is vital. This is particularly true and extremely important in the manufacture of our decaffeinated line of products. Hence, knowing more about the raw material, the process, and the finished pro-

duct quality specifications is fundamental to our business.

In the business world today, our government, G. F. management, and the scientist in the laboratory, are concerned with stricter conformance to specifications and standards of quality. For the disposition of green coffee, control of the process and quality control prior to distribution, the need for newer and faster methods of analysis has taken unprecedented priority. To meet this challenge, there has been a significant growth in the number of people devoted to analytical services and quality control. Over the past five years, the number continues to grow. However, further doubling our staff would not be a satisfactory solution. Thus, we have identified our goal — the automated computerized laboratory.

This presentation is directed to but one physicochemical measurement in coffee, but the principle is basic to our current and future activities.

METHODOLOGY REVIEW

Briefly, let us go back in time and trace some of the pertinent caffeine methodology that we have been involved in.

The basic procedures for the initial official methods for caffeine in coffee and tea were adopted after studies by ANDREW (2), BAILEY (3), and LEPPER (7). In the BAILEY-ANDREW method, adopted for tea in 1923, extraction and magnesium oxide digestion were combined in one step; the acidified extraction was concentrated and extracted with chloroform, and the caffeine was estimated gravimetrically.

As the commercial importance of decaffeinated coffee and soluble coffee increased, the methods were modified to improve their accuracy. ALLEN (1) in 1930 and CLIFFORD (5) in 1931 recommended measuring nitrogen as an index of caffeine, instead of the weight of the residue from chloroform extraction. Testing the purity of the caffeine residue by nitrogen determination was adopted in 1933. For decaffeinated coffee, BAILEY (4) rejected microchemical procedures and recommended combining caffeine residues from duplicate determinations before determining nitrogen. CROWELL (6) in 1944 and 1946 found that the POWER-CHESNUT method was not applicable to soluble coffee, and recommended the BAILEY-ANDREW method. The BAILEY-ANDREW method was adopted in the U. S. A. as official for coffee in 1950.

* With the collaboration of A. CONETTA, J. FERRY and J. E. WHITNEY.

In 1959, 1960 we studied modifications of the official BAILEY-ANDREW method. The modified BAILEY-ANDREW method was essentially a revision to include a gravimetric instead of a volumetric dilution to reduce the error in calculations. At that time, a Micro-BAILEY-ANDREW caffeine procedure was proposed for adoption. The new method was considered simpler and was in good agreement with the official method.

In 1963, an interfering, non-caffeine nitrogen containing material was found in the final Micro-BAILEY-ANDREW extract of caffeine in decaffeinated coffee. This material was identified as polypeptide with proline, leucine, and valine, the predominant amino acids. These interfering materials tended to give high results when decaffeinated coffees were analyzed by Micro-BAILEY-ANDREW procedure. It was at this time that two other spectral-chromatographic techniques were studied.

(1) The first being the LEVINE procedure which entailed an aqueous acidic extraction of coffee products. Excess sodium carbonate was added and sample placed on sodium hydroxide-celite column which was mounted over a sulfuric acid-celite column. Subse-

quent ether/chloroform washing and elution prepared the sample for spectral estimation.

(2) YERANSIAN, 1963, reported a chromatographic method utilizing acid-celite and alumina columns for purification prior to the ultraviolet determination. This method was deferred in light of the work reported in 1965 by BORKER and SLOMAN who proposed a modification of the LEVINE procedure. The modification was, specifically, the use of a basic extraction medium rather than the acidic proposed by LEVINE. The evidence indicated more efficient extraction of caffeine. The method was entered into a collaborative study. Results from eight collaborators indicated that this spectral-chromatographic method is accurate for coffee products. For decaffeinated soluble coffee, the method was more accurate and more precise than the BAILEY-ANDREW methods; however, it was not as precise as the BAILEY-ANDREW methods for regular soluble or for roasted and ground coffees. Presently, in the U. S. A., as well as in my company, the Micro-BAILEY-ANDREW method is the primary method for green, roasted and ground, and soluble coffees. The modified LEVINE procedure is used for decaffeinated green, regular and soluble coffees.

DESCRIPTION OF THE AUTOMATED CAFFEINE ANALYSIS

Let us now address ourselves to the rapid and automatic caffeine analysis.

The method can be described as an automatic spectrophotometric analysis of caffeine. It was developed in the Maxwell House Laboratories and is currently being used routinely in our research and quality control laboratories. Essentially, the principle involves an extraction of caffeine from a coffee/water solution by trichlorethylene. It is important to note, for automatic analyses on soluble and roasted and ground coffees, the coffee/water solution is clarified with magnesium oxide. For green coffees, the sample is extracted with hot ammonia water. The procedure provides a reproducible extraction of caffeine into trichlorethylene. Standard coffees are used as a means of correcting for interfering materials which may be extracted. By this practice, the precision is enhanced. The measurement of the caffeine concentration in the trichlorethylene extract is accomplished spectrophotometrically, based on an ultraviolet absorption (278 m μ). Specifically, the samples of coffee to be analyzed, and the known caffeine solutions, are automatically pumped from the liquid sampler to the mixing coils whereby the caffeine is extracted by using trichlorethylene. This trichlorethylene-caffeine solution is pumped to a separator where the aqueous fraction of the solution is removed and the

resultant solvent fraction is passed through the continuous flow detection cell in the spectrophotometer. This unit is designed to detect differences in the concentration of caffeine, signal of which is sent to a strip chart recorder where a graphic presentation is made. The chart paper is calibrated directly in terms of optical density. The strip chart demonstrates a series of peaks determining change in concentration of caffeine in the coffee samples against known caffeine solutions. Comparing the peak heights or optical densities against the sample weight and moisture, the percent caffeine of the coffee sample can be calculated (Chart I).

The caffeine content of the standards is determined manually by the Micro-BAILEY-ANDREW procedures (Methods of the A. O. A. C. 10th Ed. 14.021 p. 217) or by the LEVINE procedure for decaffeinated coffees (A. O. A. C. 10th Ed. 14.022, .023, .024, p. 217). Our analysts have determined the coefficient of variation for the autor analyzer method to be 0.018 as compared to the BAILEY-ANDREW procedure 0.040. The regression line is $A = -0.012 + 0.457 BA$, a correlation coefficient of 0.982.

Let us look into a more detailed description of the automatic system (Chart II).

The automated caffeine system consists of four major components.

CHART I

% Caffeine =

$$\frac{(\text{Weight of Coffee Standard}) \left(1 - \frac{\% \text{H}_2\text{O in Coffee Standard}}{100}\right) \times (\% \text{Caffeine in Coffee Standard}) (\text{Peak Height of Sample})}{(\text{Weight of Coffee Sample}) \left(1 - \frac{\% \text{H}_2\text{O in Coffee Sample}}{100}\right) \times (\text{Peak Height of Standard})}$$

% Caffeine of Unknown Sample =

$$\frac{(\text{Caffeine in Known Sample}) (\text{Weight of Known Sample}) \times \left(1 - \frac{\% \text{H}_2\text{O of Known Sample}}{100}\right) (\text{Optical Density of Unknown Sample})}{(\text{Weight of Unknown Sample}) \left(1 - \frac{\% \text{H}_2\text{O of Unknown Sample}}{100}\right) \times (\text{Optical Density of Known Sample})}$$

FLOW DIAGRAM - AUTO ANALYZER

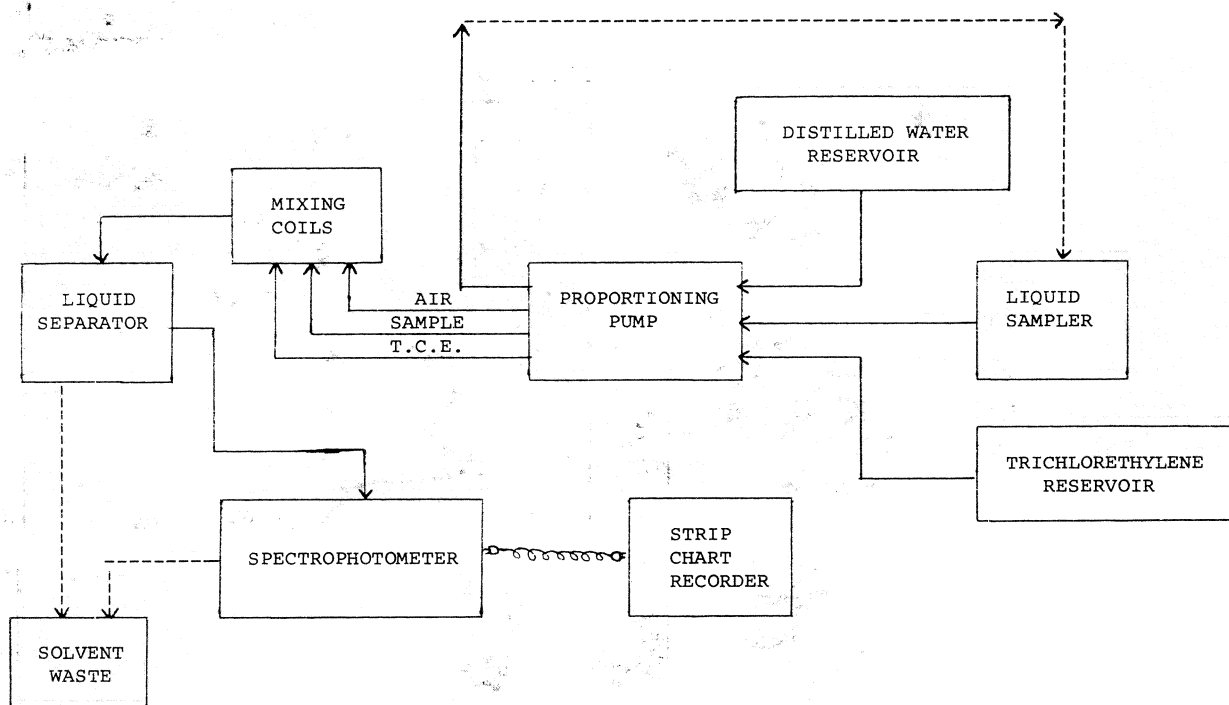


CHART II

The proportioning pump

The pump is the heart of the auto analyzer system. It is responsible for delivery of all solutions in prescribed amounts to the mixing coils, the liquid separator, the continuous flow detector cell, and finally, after completion of analysis, removal of the sample out of the system to the waste solvent reservoir. The pump performs all these tasks with exacting control and precise timing.

The liquid separator

The liquid separators function to remove the aqueous solution from the mixture allowing only the trichloroethylene caffeine solution to remain. The aqueous phase is removed by the use of a vacuum line.

The liquid sampler

The liquid sampler consists of a rotating sample turntable and a two cycle sample probe that draws

aliquots of the samples towards the mixing coils through the action of the proportioning pump.

The spectrophotometer (with continuous flow cell) and recorder

The Beckman DB-G spectrometer, by design, is an accurate and precise instrument. As the trichlorethylene caffeine solution passes through the continuous flow cell, the instrument detects a difference in the light transmission, i. e., concentration of the liquid flowing through the cell. The instrument translates the difference in concentration into an electrical signal which is transmitted to a strip chart recorder which in turn generates a graphic representation of this signal on chart paper. The signal representation on the chart paper is calibrated in optical density. On the screen, one can get a better perspective of the unit. (refer to photographs 1-5).

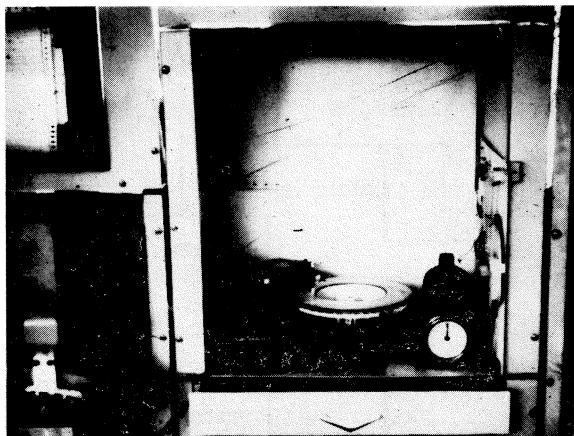


Fig. 1

Fig. 2

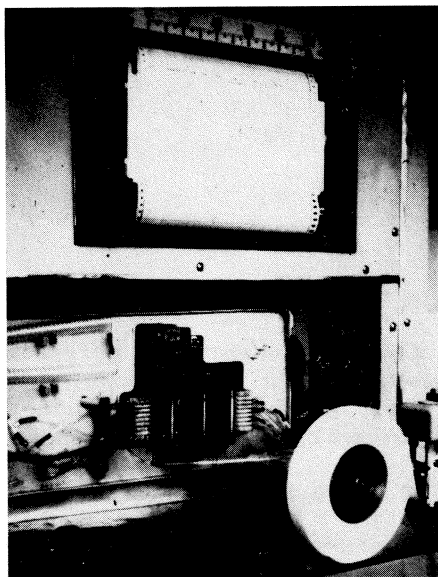


Fig. 3

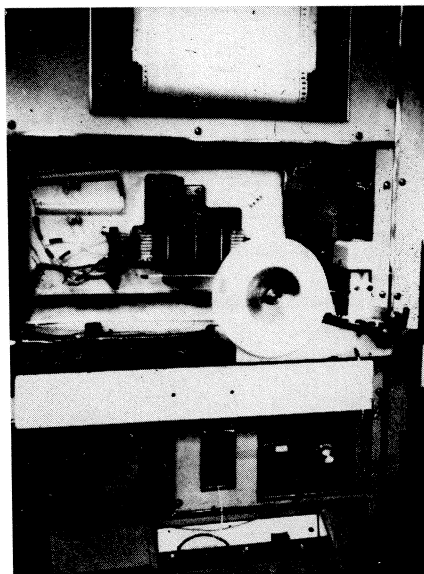


Fig. 4

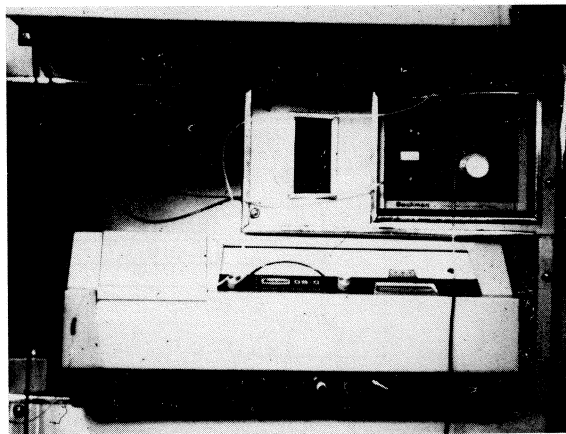
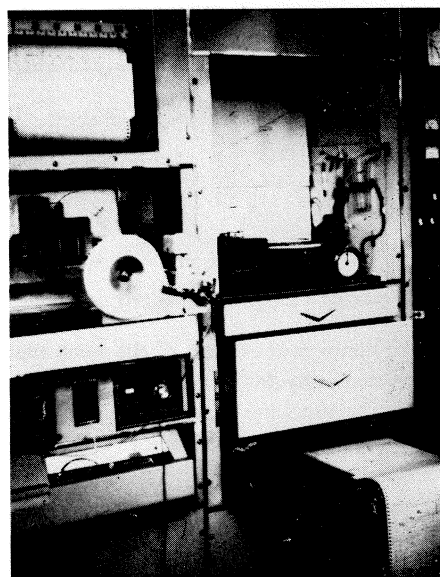


Fig. 5



DISCUSSION

The scientific value of automated and rapid measurements of caffeine should by now be self-evident. The concern of my company is to devise methods which enable us to know more about the process and how it can be controlled with in already stringent quality specifications. We feel the achievement associated with this new procedure is in reducing significantly the time and effort to measure one specific physicochemical constituent of coffee. It demonstrates, however, a capability which extends itself to the measurement of other product characteristics, such as degree of roast. These methods beyond caffeine are currently being investigated, and they may serve as the forerunner system for in-process control capabilities. We are currently designing pilot plant systems which will enable us to monitor and control our decaffeination extractors. Whereas, in the past using conventional methods of analyses, we were able to physically handle a small number of samples, we are now able to increase our confidence

in meeting specifications many fold times using this new technique. For example, one analyst was able to run 18 MBA analyses per eight hours. With the new technique, with the same individual, a minimum of twelve determinations per hour is routine. As evidence of our confidence in this technique, we have for more than a year implemented this new procedure in the quality control laboratories in both our Hoboken, New Jersey and Houston, Texas decaffeination facilities. We have also incorporated this procedure in our quality control laboratories in the manufacturing plants for auditing caffeine in our green coffee, soluble, and roasted and ground products. We would like to show you at this time an advanced look into one of the packaged analytical units primarily devoted to caffeine analysis. (refer to photographs 6 and 7).

We would like at this time to acknowledge the significant contributions of the Technicon Instruments Co. for their invaluable service.

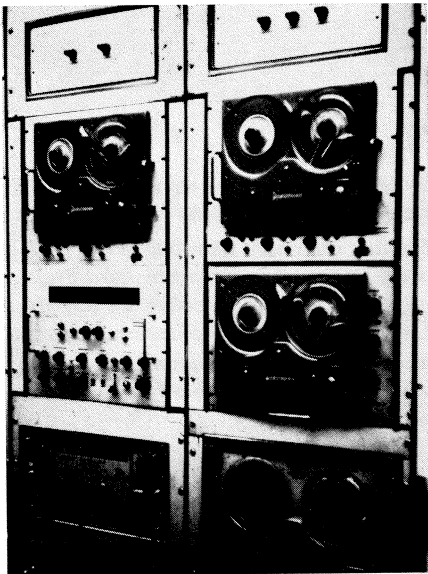


Fig. 6

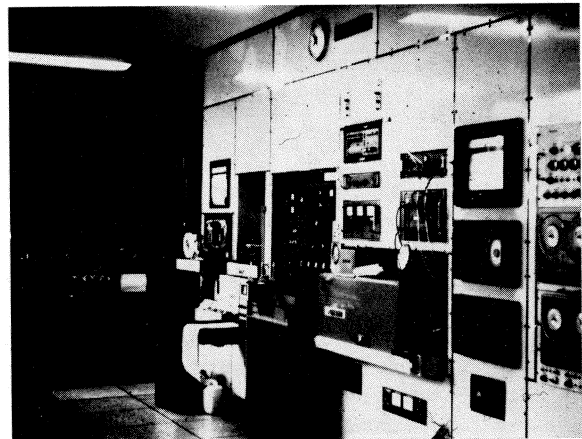


Fig. 7

CONCLUSION

In conclusion, I have presented a brief look into a new rapid and automatic caffeine analysis which has effectively increased our ability to know more about

our coffees and to better control our most important commodity, quality.

REFERENCES

1. ALLEN, W. F., *A. O. A. C.*, 13, 265 (1930).
2. ANDREW, R. E., *ibid.*, 6, 107 (1922).
3. BAILEY, E. M., *ibid.*, 5, 288 (1921).
4. BAILEY, E. M., *ibid.*, 16, 567 (1933) ; 17, 380 (1934).
5. CLIFFORD, P. A., *ibid.*, 14, 533 (1931).
6. CROWELL, G. K., *ibid.*, 27, 168 (1944) ; 29, 37 (1946).
7. LEPPER, H. A., *ibid.*, 5, 267 (1921).

FAZZINA (T.). — **Nouvelle méthode rapide de dosage de la caféine des cafés.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 97-102, fig., réf.

La société Maxwell House, filiale de la General Foods Corporation, a mis au point une nouvelle méthode rapide de dosage de la caféine des cafés, qui est couramment utilisée dans les laboratoires de contrôle de la qualité. L'emploi de cette méthode pour effectuer des contrôles au cours de la production est exposé par l'auteur qui fait également une revue critique de plusieurs méthodes analytiques standards de dosage de la caféine.

FAZZINA (T.). — **New and rapid method for the analysis of caffeine in coffee products.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 97-102, fig., réf.

A new and rapid method for caffeine measurement in coffee products has been developed by the Maxwell House Division of General Foods Corporation. The new method is currently being used in the quality control laboratories. In-process control applications are discussed. A critical review of several standard analytical methods for measuring caffeine is included.

FAZZINA (T.). — **Neue Schnellmethode zur Bestimmung des Coffeins der Kaffees.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 97-102, fig., réf.

Die Firma Maxwell House Filiale der General Foods Corporation hat eine neue Schnellmethode zur Bestimmung des Coffeins der Kaffees fertiggestellt die laufend in den Laboratorien der Qualitätskontrolle angewandt wird. Der Autor legt die Anwendung dieser Methode zur Kontrolle während der Produktion dar und unterzieht ausserdem mehrere analytischen Standardmethoden für die Coffeinbestimmung einer kritischen Prüfung.

DISCUSSION

M. NAVELLIER : Je désire savoir si, dans l'appareillage très perfectionné présenté, il est nécessaire d'introduire des échantillons types de cafés et par quelle méthode de référence la caféine est dosée dans ces cafés types.

M. FAZZINA : Our standard method is the A. O. A. C. method. We allot quarterly from our green coffee processing office a standard green coffee (standard Columbian, standard washed Central American, standard Brazil, standard Robusta). Then we analyze it by the micro-Bailey-Andrew method and for decaffeinated coffee we use the modified Bailey method. We then roast the coffees in our research laboratory and send them out to the places to act as the primary standard in setting up the efficiency or precision in our instrumentation, daily. Every six sample is a coffee standard. All five laboratories are using the same coffee standards, and the value that they use is based on the micro-Bailey-Andrew and the modified Bailey-Andrew as a primary standard.

M. NAVELLIER : Les cafés standards que vous répartissez dans vos usines pour l'étalonnage sont-ils envoyés en grains, avec les risques d'hétérogénéité que cela comporte, ou sont-ils expédiés moulus et homogénéisés plus complètement ?

M. FAZZINA : We do not grind the coffee ; we send out the whole bean green in vacuum packed cans. We have standardized the technique for blending and grinding in order to calibrate the technique at the early stage of the extraction. It seems from the regression lines and our precision that we have been successful.

M. WILBAUX : Quelle est la limite de sensibilité de votre méthode pour le café décaféiné ?

M. FAZZINA : I do not have it calculated. We certainly go down to 0.01 %.



FRACTIONATION AND ANALYSIS OF AROMA PRECURSORS IN GREEN COFFEE

H. RUSSWURM Jr.

Central Institute for Industrial Research
Blindern, Oslo, Norway

It is a recognized fact that the volatiles that produce coffee aroma form during the roasting process. The aroma components in roasted coffee are very thoroughly investigated. Newer work by STOLL *et al.* (1), STOFFELSMÄ and PYPKER (2) and GIANTURCO *et al.* (3) can be mentioned. However, there are considerably fewer published works on the actual forming of these aroma components and their precursors. The works that have been carried out are mostly of an early date, and are based on a comparison of the composition of green coffee and roasted coffee. Quantitative amounts of carbohydrates, chlorogenic acid, caffeine, protein, free amino acids, fat, etc. have been determined for coffee both before and after roasting. Carbohydrates, and especially sucrose, have been found to decompose during roasting [SIVETZ (4)]. Chlorogenic acid also decomposes to a great extent. On the whole fat and proteins have proven stable during roasting, but the change that does occur in total nitrogen content takes place in the water soluble fraction. A newer procedure exists for studying aroma precursors in other foodstuffs, where the aroma develops during a heat treatment — for example for meat (5), peanuts (6) and cocoa (7). In all these investigations the water soluble portion of the raw product has been isolated and then fractionated in higher and lower molecular fractions. These fractions have subsequently been heat-treated, and the resulting aroma investigated organoleptically and/or by physio-chemical analytic methods. Even with respect to the completely different aromas that are formed, all investigators have found the water soluble

components in the raw product to be of vital consequence, the free amino acids and reducing sugars also play a significant role. HORNSTEIN and CROWE found that the dialyzed water extract of raw beef contained precursors for « lean meat ». Further fractionation of the dialyzed water extract gave an amino acid fraction and a sugar fraction.

None of these produced a meat aroma as a result of heating, however, a recombination produced a meat aroma. MACY *et al.* (8) found that certain amino acids decomposed more than others, likewise ribose was the most labile of the reducing sugars, while glucose was relatively stable during heating.

ROHAN *et al.* (7) found in their investigation of cocoa, that the free amino acids and sugars play a significant role in the forming of cocoa aroma. He has also shown that the preliminary fermentation process of the cocoa beans influences the aroma potential.

In the above-mentioned works the water extracts, for the most part, were fractionated by means of dialysis, precipitation or ion exchange.

In our work, which was based on the study of aroma precursors in coffee, we chose gel filtration for fractionating of water extracted components. Gel filtration is a relatively new technique, to a large extent used for fractionating of high molecular components in biochemistry. Sephadex produced by Pharmacia, Uppsala, Sweden, was used for gel filtration. Sephadex is composed of the carbohydrate dextran, and cross-linked with epichlorohydrin in a so-called bead polymerisation process. The principle for the fractionation is that the smaller

molecules can diffuse into the Sephadex beads, while the larger molecules pass the beads and therefore come in the front of the eluate, the so-called void volume. The degree of cross-linking will determine the size of the molecules that will diffuse into the gel, this provides a means to separate a fraction with a molecule weight above a selected number, from the smaller molecules by varying the degree of cross-linking.

Now I will present a work where we began with a well-characterized Arabica coffee (Santos Johnston N° II). The coffee was ground and sieved, and the fat extracted in soxhlet by means of petrol ether. The fat-free coffee powder was extracted repeatedly with water at a low temperature (1-2° C). The combined water extracts, with solid content of 1-2 % were chromatographed on a preparative column filled with Sephadex. We used Sephadex G 25, that excludes molecular weights over 5 000 (Column 105.5 cm, height 100 cm, void volume approx. 500 ml). It was important to choose an eluant that gave no residue during evaporation. During the initial test, water was used as eluant, and we also obtained a certain fractionation. See figure 1 : the upper figure (1A) shows a chromatogram with water as eluant.

The eluant from the column was registered continually on a LKB uvicord 8 300, on a wave length of 254 m μ . The fraction number appears on the abscissa. (Flow rate 3.7 ml/min., total elution time 20 hours, total elution volume approx. 2 500 ml divided into 30 ml fractions.) Using water as eluant, an interesting effect resulted : the water soluble coffee extract had a number of strongly polar components, among others chlorogenic acid. The elution time for chlorogenic acid varied considerably according to the amount of extract that was added to the column. (The last peak in the figure is chlorogenic acid.) If the column is overloaded - that is if a large amount of extract is added to the column, the chlorogenic acid is found in one of the final fractions

as in the figure 1A. On the other hand, if a small amount of extract is added, the chlorogenic acid is found in the void volume, along with the higher molecular components, and with a pronounced tailing through all the fractions. Previously Sephadex gel has been shown to have a certain negative loading. The gel can therefore act as a repellent to chlorogenic acid, so that this does not diffuse into the gel, but passes through the column in the front.

On the other hand, if the column is overloaded with extract, the extract will act as a buffer and the chlorogenic acid will give the expected retention time.

0,1 normal acetic acid has proven to give relatively well-dissolved fractions, at the same time this can be evaporated by means of mild conditions. The lower figure (1B) show the gel chromatogram with acetic acid as eluant. Here there are 6 main fractions and a number of small peaks. In the following I will refer to the above-mentioned fraction numbers.

The fractions were separated in 30 milliliter fractions by a fraction cutter, freeze-dried and roasted in a closed glass ampoule. The roasting was done in a gas chromatograph oven at 180-220 °C. In figure 2 the procedure is shown schematically. At all stages of the process the dried extracts have been roasted and determined organoleptically. It is of paramount importance that the roasting takes place in a closed ampoule, otherwise the volatiles will escape. The green coffee powder, defatted coffee powder and the water extract of this, smelled like coffee when roasted, while the smell of the roasting residuum after the water extraction resembled burnt protein (bread). After the gel filtration only fraction 4 gave an aroma that suggested coffee aroma. Immediately after the opening of the ampoule a sharp smell was evident, but after a short time the odour resembled that of coffee.

Fraction 4 was chemically characterized. Trigonelline, sucrose, and a small amount of fructose and glucose

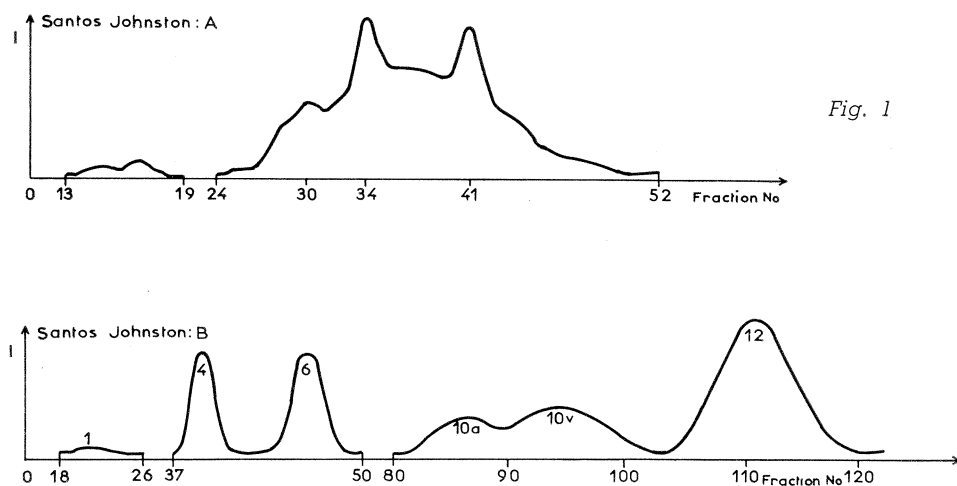


Fig. 1

were found. In addition a number of free amino acids and a peptide that was not further characterized were also found.

Fraction 1 contained readily hydrolyzed carbohydrates and peptides. Ninhydrin-positive components were found only in Fractions 1 and 4. In Fraction 6 caffeine was found and in Fraction 12 only chlorogenic acid.

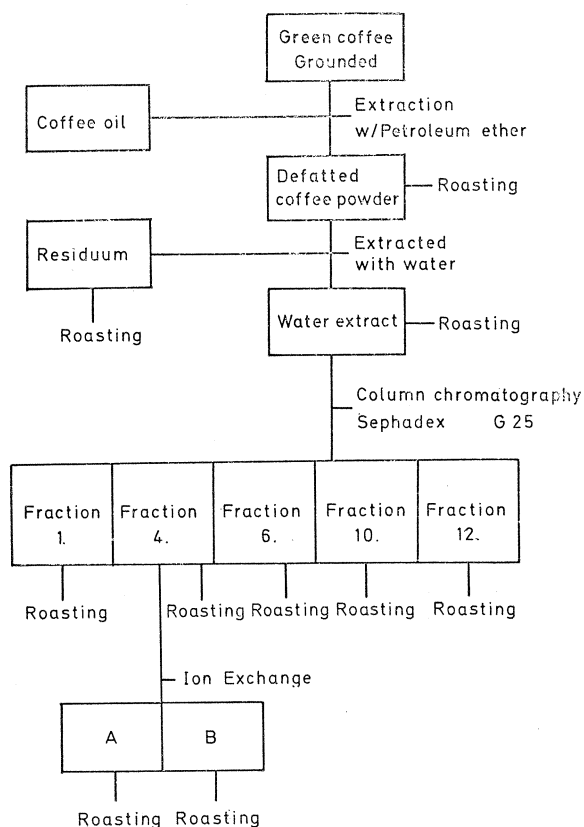


Fig. 2

Fraction 4 is fractionated further by ion exchange chromatography (Dowex 5W \times 12 — acid form), wherein the amino acids and trigonelline are bound to the resin while the sugars are washed out with distilled water. Thereafter the amino acids are eluted with 4 normal ammonium hydroxide — and fractions A and B result. These are freeze-dried, roasted and determined organoleptically. No coffee-resembling aroma from these two fractions was evident, but by recombining, it was again possible to obtain an aroma reminiscent of coffee. Fraction 4 is also combined in pairs with the other fractions and all the fractions are combined without producing a more distinct coffee aroma — except for a slight improvement by combining fractions 1 and 4.

It would be wrong to draw the conclusion from this work that all precursors for coffee aroma are found in Fraction 4. However, in our opinion the investigation emphasized that free amino acids and sugars are important for the formation of coffee aroma and that a substantial number of precursors for coffee aroma are found in this fraction. It is also worth noting that chlorogenic acid is not in evidence here.

It would be natural to extend this work to include different types of coffee, and the contents of components found in Fraction 4. One example is shown in figure 3 where the gel chromatogram of the water extract of Angola Robusta and Santos Johnston are compared. We can also see the large amount of caffeine in Robusta.

It is also obvious that not only types of coffee but also different processing methods can influence the amount of Fraction 4. We have analyzed a number of coffee types kindly sent us by Dr. WOOTON, East African Industrial Research Organization. The material is at present too limited for us to draw any conclusion. We hope that the work will continue, so that we can investigate whether there is a connection between quality of coffee and amount of the water soluble Fraction 4.

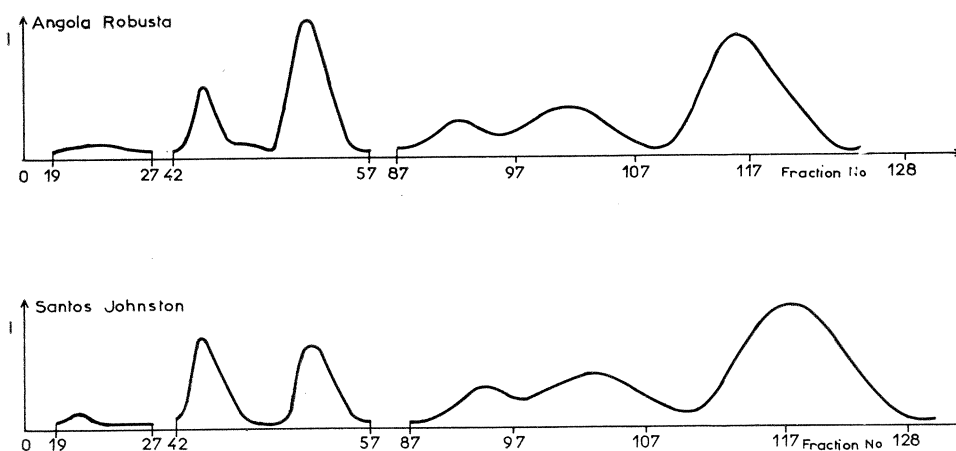


Fig. 3

REFERENCES

1. STOLL, M., WINTER, M., GAUTSCHI, F., FLAMENT, Y., WILLHALM, B. — *Helv. Chim. Acta*, **50**, (1967), 628.
2. STOFFELSMA, J., PYPKER, J. — *Rec. Trav. Chim.*, **87** (1968), 241.
3. GIANTURCO, M. A., GIAMMARINO, A. S., FRIEDEL, P. — *Nature*, **210** (1966), 1358.
4. SIVETZ, M. — *Coffee Processing Technology II*, P. 165-67. The Avi Publ. Co., Westport, Conn., 1963.
5. a) HORNSTEIN, I., CROWE, P. F. — *J. Agr. Food Chem.*, **8** (1960), 494.
b) — *J. Gas Chrom.*, April, 1964, 128.
6. a) MASON, M. E. — *Procedures in studying and Factors influencing the quality and Flavor of roasted Peanuts*. Dissertation, Oklahoma State University 1963.
b) NEWELL, J. A., MASON, M. E., MATLOCK, R. S. — *J. Agr. Food Chem.*, **15** (5) (1967), 767-72.
7. a) ROHAN, T. A. — *J. Sci. Food Agr.*, **14** (1963), 799,
b) — *J. Food Sci.*, **29** (1964), 456.
c) — and CONNELL, M. — *Ibid.*, **29** (1964), 460.
d) — and STEWART, T. — *Rev. Int. Choc.*, **19** (1964), 502.
e) — and STEWART, T. — *J. Food Sci.*, **30** (1965), 416.
f) — *Gordian*, LXV (1965), 795.
g) — *Food Technol.* November 1965, 122.
h) — and STEWART, T. — *J. Food Sci.*, **31** (1966), 202.
i) — and STEWART, T. — *Ibid.*, 206.
j) — and STEWART, T. — *Ibid.*, **32** (1967), 625.
8. MACY, R. L. jr., NAUMANN, H. D., BAILEY, M. E. — *J. Food Sci.*, **29** (1964), 136.

RUSSWURM (H.). — Fractionnement et analyse des précurseurs de l'arôme dans le café vert. Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 103-107, fig., réf.

Des travaux antérieurs ont montré que les hydrates de carbone, notamment le sucrose, et l'acide chlorogénique se décomposent au cours de la torréfaction. On a prouvé que les graisses et les protéines étaient relativement stables, et la perte d'azote total se produit dans la fraction du café vert soluble dans l'eau. Dans le travail de l'A. l'extrait aqueux de café vert a été fractionné sur gel. En plus de la fraction de poids moléculaire le plus élevé, cinq fractions de faible poids moléculaire furent obtenues. Ces fractions furent lyophilisées puis chauffées à la température habituelle de torréfaction dans une ampoule de verre scellée. On étudia l'arôme final : une seule des fractions à faible poids moléculaire donna un arôme rappelant celui du café, et celui-ci ne fut pas amélioré après que l'on ait recombinaé les autres fractions. Chacune des fractions fut analysée chimiquement ; dans la fraction donnant l'arôme, on a trouvé du sucrose, du fructose, du glucose, de la trigonelline et un certain nombre d'acides aminés.

RUSSWURM (H.). — Fractionation and analysis of aroma precursors in green coffee. Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 103-107, fig., réf.

Former works have shown that carbohydrates, especially sucrose, and chlorogenic acid decompose under the roasting process. Fat and proteins have been shown to be relatively stable, and the loss in total nitrogen content will be in the water soluble fraction of green coffee.

In our work the water extract of green coffee has been fractionated by gel filtration. In addition to the higher molecular fraction, five low molecular fractions are obtained. The fractions are lyophilized, and heated to common roasting temperature in closed glass ampoules, and the resulting aroma judged. Only one of the low molecular fractions gave an aroma reminiscent of coffee, and this was not improved by recombination of the other fractions. The fractions are chemically characterized, and in the aromagiving fraction sucrose, fructose, glucose, trigonellin and a number of amino acids were found.

RUSSWURM (H.). — Fraktionierung und Analyse der Vorläufer des Aromas beim Rohkaffee. Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 103-107, fig., réf.

Frühere Arbeiten haben gezeigt, dass die Kohlenhydrate, insbesondere Saccharose, und Chlorogensäure sich während der Röstung zersetzen. Es wurde bewiesen, dass Fette und Proteinverhältnismässig stabil waren ; der Verlust an Gesamtstickstoff findet in der im Wasser löslichen Fraktion des Rohkaffees statt. In vorliegender Arbeit wurde der Wasserextrakt des Rohkaffees auf Gel fraktioniert. Ausser der Fraktion mit dem höchsten Molekulargewicht wurden fünf Fraktionen mit niedrigerem Molekulargewicht erhalten. Diese Fraktionen wurden gefriergetrocknet und sodann in einer Glasampulle auf die gewöhnliche Röstungstemperatur gebracht. Das gebildete Aroma wurde geprüft : eine Fraktion mit niedrigem Molekulargewicht ergab ein an das Kaffeearoma erinnerndes Aroma und dieses wurde nicht dadurch verbessert, dass man die anderen Fraktionen wieder damit vereinigte. Jede der Fraktionen wurde chemisch untersucht ; in der das Aroma abgebende Fraktion fand man Saccharose, Fructose, Glucose, Trigonellin und eine Reihe von Aminosäuren.

DISCUSSION

M. TELEGDY-KOVATS : Rohan used a « micro-roaster » in his investigations of the aroma precursors of cocoa. Would this elegant technique of combining the « micro-roaster » with a gas-chromatograph not be useful in investigation of the coffee aroma precursors too ?

M. RUSSWURM : We have not tried the technique used by Rohan. We tried to analyze the head space gas of the roasted fractions by gas chromatography and a conventional technique with gas tight syringe, but we have not been successful in this work as the method was not good enough. We shall try a new technique with a pre-column concentration so that we may use highly efficient capillary columns.

THE EFFECT OF PROCESS VARIABLES ON AROMA RETENTION IN DRYING COFFEE EXTRACT

H.A.C. THIJSSEN

Department of Chemical Engineering,
Technical University, Eindhoven

INTRODUCTION

Coffee extract is industrially obtained by a counter current extraction of the ground roasted coffee beans with hot water. High leaching efficiencies are achieved by partly hydrolysing the carbohydrates of the bean at temperatures somewhere between 140° C and 170° C. Notwithstanding the formation of those hydrolysed components the quality of the extract can be kept acceptable if the extraction and hydrolysis time is kept short. Short extraction times can be realised by finely grinding the beans and using a high solvent raffinate ratio. A high ratio of the water-coffee rates results in a low dissolved solids content, for example 5-10 wt %, of the coffee extract.

The quality of the coffee extract is mainly due to the volatile aromas. The volatile aromas of coffee comprise over 300 components with boiling points varying between — 160° C and over 250° C. A typical low boiling component is methyl mercaptane. The greater part of the aromas is present in the p. p. m. concentration range. The quality of extract can be partly or even totally lost by thermal degradation of the heat sensitive volatiles and or by evaporation losses in the concentration and drying step following the extraction. Retaining the aromas in the concentration and drying is especially quite a problem.

Nearly all the aroma components, even the high boilers, have a volatility relative to water greater than 1. The relative volatility $\alpha_{j,w}$ of component j to water is defined by

$$\alpha_{j,w} = \frac{{}^*C'_j/C_j}{{}^*C'_w/C_w} \quad (1)$$

*C' refers to the concentration of a component in the gasphase in equilibrium with C, the concentration of that same component in the liquid phase. The ' denotes the gasphase and the asterisk phase equilibrium. The

subscripts j and w refer respectively to an aroma component j and water. In terms of activity coefficients and vapour pressures equation (1) becomes

$$\alpha_{j,w} = \frac{\gamma_j P_j^0}{\gamma_w P_w^0} \quad (2)$$

where γ_j and γ_w are the thermodynamic activity coefficients of component j and w in the coffee extract and P_j^0 and P_w^0 are the pure vapour pressure of these components.

Because all the aroma components are present in very low concentrations, the activity coefficients of these components are equal to the values at infinite dilution in the system water-dissolved solids and vary only with the water concentration and temperature. The activity



coefficient of water is dependent on the water concentration and may vary between the value 1 for pure water and about 0.2 in nearly dry systems. At infinite dilution the values of γ_j are very large compared to γ_w . The consequence of this is that even the high molecular components with a low vapour pressure still exhibit a large relative volatility. The relative volatilities of some components at infinite dilution in pure water are presented in table 1. Remarkable from table 1 is that generally an increase in boiling point, see for example the alcohol homologues, results in an increase of the relative volatility.

The significance of the relative volatility is that it indicates the potential loss of the component in an evaporation process. At equilibrium evaporation of liquids (vapour and liquid in phase equilibrium) there can be derived for the retention R_j of aroma component j

$$R_j \equiv \frac{W_{jt}}{W_{j0}} = \left(\frac{W_{wt}}{W_{w0}}\right)^{\alpha_{jw}} \quad \text{or} \quad R_j = R_w^{\alpha_{jw}} \quad (3)$$

where W_0 is the amount of the component originally present in the mixture and W_t the amount left after time t. The subscripts j and w refer again to the particular component. Retentions of a number of components in low concentrations in water after equilibrium evaporation of 97 wt % of the water from a 50 wt % solution are also given in table 1.

In concentrating liquids by evaporation of the water at the boiling temperature of the solution, like in film evaporators, the gas and liquid phase are more or less in phase equilibrium. The consequence of this is that all aroma components are nearly lost completely.

One possibility for retaining aromas is to strip them out of the extract with water vapour before the concentration step. Thereupon the aroma-containing vapour can be concentrated by distillation under reflux and the aroma free extract be concentrated in an evapora-

TABLE 1

Relative volatilities of some aroma components at infinite dilution in water and retention of those components after evaporation of 97 % of the water

Component	Boiling point (°C)	$\alpha_{j,w}$ (wt basis)	Retention (%)
Methyl mercaptan	5.8	> 500	10 ⁻⁷⁴⁸
Acetaldehyde	20.2	210	10 ⁻³¹⁴
Acetone	56.5	46	10 ⁻⁶⁸
Methyl acetate	57.8	113	10 ⁻¹⁶⁸
Methanol	64.7	8	10 ⁻¹⁰
Ethanol	78.4	12	10 ⁻¹⁵
N. propanol	97.8	16	10 ⁻²³
Water	100.0	1	3.1
Pyridine	115.4	3	0.004
N. butanol	117	27	10 ⁻³⁸
N. pentanol	138	32	10 ⁻⁴⁶

tor. After the dewatering the non volatile concentrate and the aroma can be rejoined. Another, but better quality preserving, method is to concentrate the dilute coffee extract by freeze concentration.

For the drying of the coffee extract neither the reconstitution procedure nor the freeze concentration technique are applicable. However, fortuitously it happens that in drying concentrated solutions there is generally no phase equilibrium at all. It will be shown that in this case the retention becomes nearly independent of the relative volatility. By optimizing the process conditions aroma retentions can be obtained which even for the most volatile components approach 100 %. The relatively high retentions of components with a relative volatility larger than 1 is explained by the low diffusivity of the aromas in the drying slab or particle.

THE SELECTIVE DIFFUSIVITY CONCEPT

In drying by evaporation the water molecules experience a resistance for mass transfer in the drying particle and a resistance for mass transfer in the surrounding gas phase. In freeze drying the water has to be transported from the ice front through the open pores in the drying zone to the surrounding free gas space, and there is, moreover, a simultaneous transport of residual water from the semi-solid matrix in the ice-free zone to the gas phase in the pores.

Diffusion equations

For the water flux F_w from the surface of a drying particle it can be derived that

$$F_w \equiv -D_w \left(\frac{\partial C_w / \partial z}{1 - C_w / \rho_w} \right)_{z=0} = k'_w (C'_{iw} - C'_w) \quad (4)$$

(transfer in liquid or solid) (transfer in gas phase)

The change of the water concentration at depth z from

the surface with progress of time is described by

$$\frac{\partial C_w}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial z} \left(D_w \frac{\partial C_w}{\partial z} \right) \quad (5)$$

The evaporation rate F_j of an aroma component from a drying particle can be described by

$$F_j = - \left(D_j \frac{\partial C_j}{\partial z} \right)_{z=0} = k'_j (C'_{i,j} - C'_j) \quad (6)$$

In equation (4), (5) and (6) D_w and D_j are respectively the diffusion coefficients in the drying particle of water and aroma component j ; k' is the mass transfer coefficient; the subscript i refers to the condition at the gas-solid interface where $z = 0$; z is a coordinate of length perpendicular to the drying interface; t is the time, and ρ_w is the density of water. The relation between C_{iw} and C'_{iw} can be obtained from experimental equilibrium humidity data, see figure 1, and the relation between $C_{i,j}$ and $C'_{i,j}$ from C_{iw} , C'_{iw} and α_{jw} .

For high relative volatilities of component j this component has a tendency to evaporate much faster than the water and it is the diffusional transport to the surface which becomes the controlling and limiting factor in the evaporation. The consequence of this is that at value of α_{jw} exceeding 10 and at high evaporation rates thus high values of k'_w and k'_j (which makes the diffusional transport in the liquid or solid phase the limiting factor for water and aroma loss) the retention of volatile aromas becomes nearly independent of the relative volatility. Consequently the evaporation of component j can simply be described as a molecular diffusion in a solid with a zero interfacial concentration of j . Provided the water flux F_w from the surface is not too low the relative loss of aromas compared to water is, according to equations (4) and (6), controlled by the value of the ratio D_j/D_w .

The selective diffusivity

It is well known that the diffusion coefficients in aqueous solutions are strongly dependent on the water concentration, especially at low water content. In previous investigations we measured the diffusion coefficients of water and of acetone in dextrin and in coffee extract with the water content as variable. All these experiments were done for concentrations of the volatiles below 0.1%. Some results are given in figure 2. Figure 3 shows the variation of the ratio of the diffusion coefficient of acetone to the diffusion coefficient of water as a function of water concentration in coffee extract. Figure 3 clearly illustrates that at water concentrations below about 10 wt % the ratio $D_{acetone}/D_{water}$ becomes so small that the extract in fact can be considered as being selective permeable for water only. The selective diffusivity for water is a common property of all non crystalline hydrophylic organic systems.

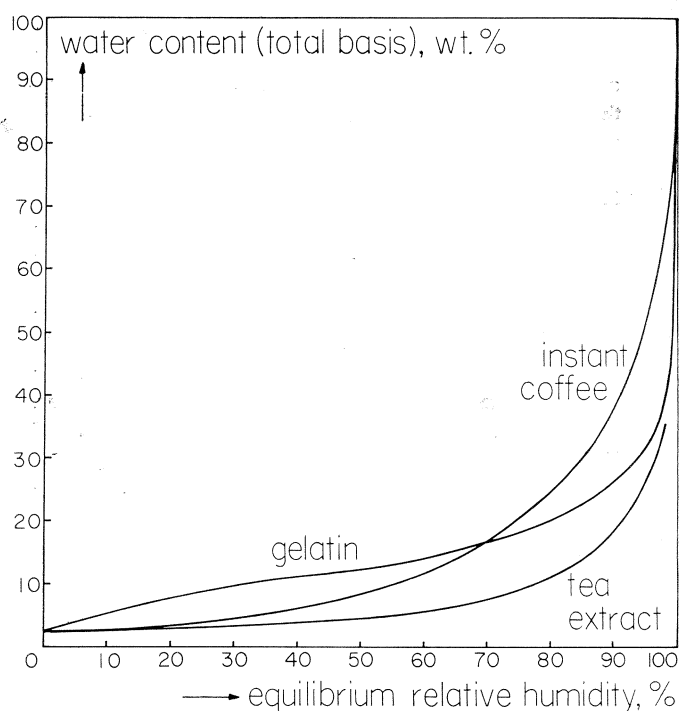


Fig. 1. — Experimental equilibrium humidity data of gelatine, coffee extract, and tea extract, after NEMITZ (9)

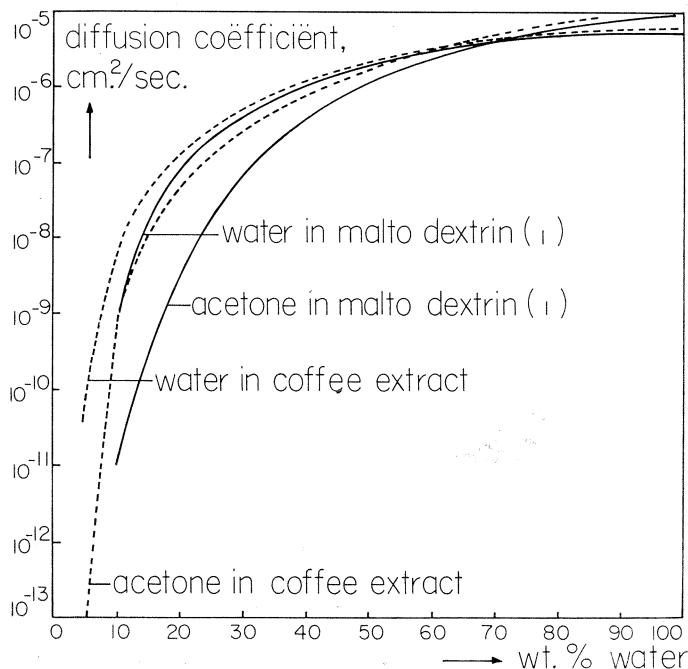


Fig. 2. — Effect of water concentration in aqueous solutions upon the diffusion coefficient of water and acetone

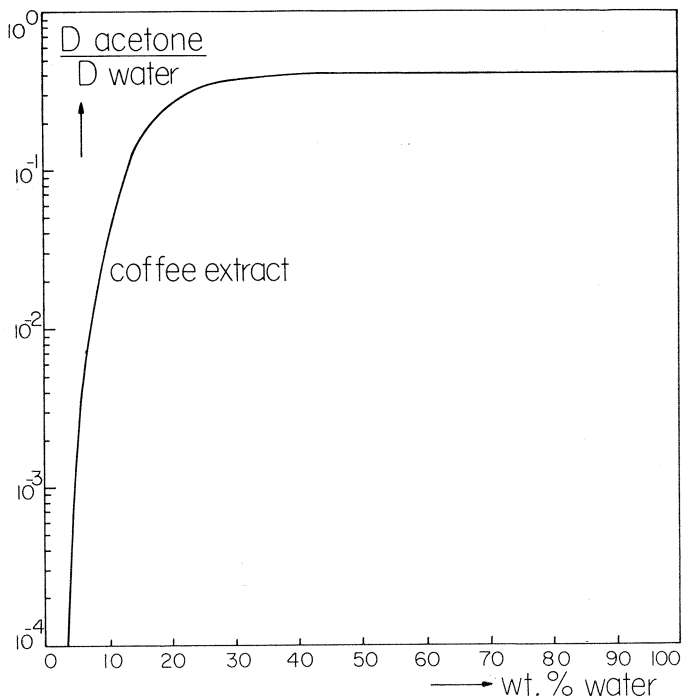


Fig. 3. — Influence of water concentration in coffee extract on the ratio of the diffusion coefficients of acetone and water at room temperature

It can be derived from the above that at surface water concentrations below 10 to 15 wt % the interface becomes practically impermeable to volatile aromas. The moisture content at which the coffee extract becomes practically impermeable for aromas we shall call the critical moisture content.

Explanation of the retention of volatile aromas

In drying, conditions leading to a high drying rate cause a steep concentration gradient in the liquid phase near the gas liquid interface. As soon as the surface water concentration falls below a critical value the surface becomes increasingly impermeable to the diffusing aromas. Thus if the water concentration at the surface, or, more generally, at the liquid-gas interface, can be lowered very quickly below the critical value, aroma retentions can be expected near 100 %. The time dependency of the surface water concentration $C_{i,w}$ in a drying layer is illustrated in figure 4. The figure clearly illustrates the effect of both the mass transfer coefficient in the gas phase k'_w and the effect of the water concentration of the liquid to be dried.

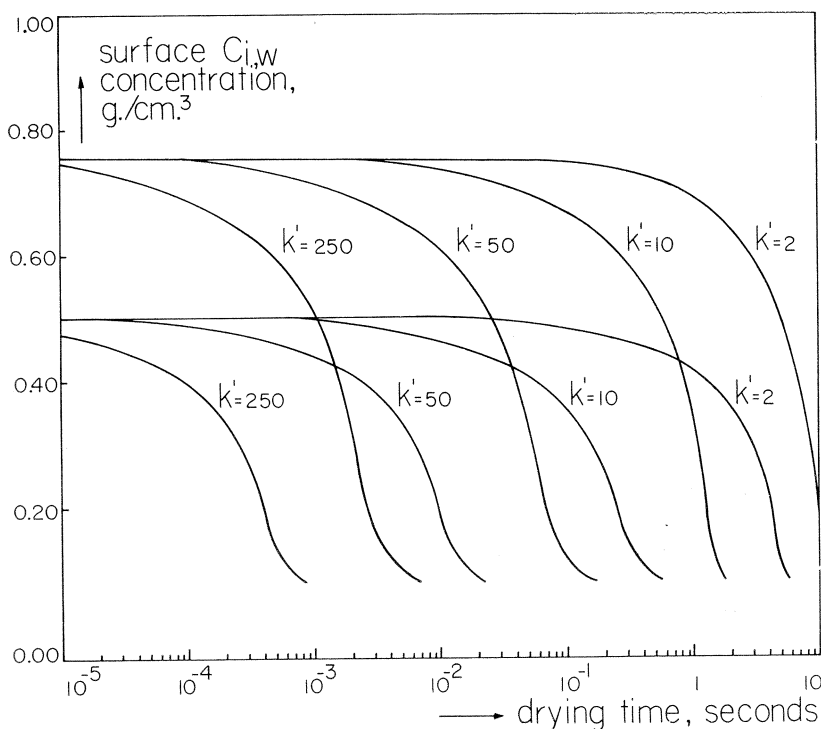


Fig. 4. — Time dependence of the surface water concentration $C_{i,w}$ in a layer of drying dextrin. The mass transfer coefficient k' is taken as parameter

EFFECT OF PROCESS VARIABLES ON AROMA RETENTION

As stated already a rapid decrease of the water content at the evaporating interface is a prerequisite for obtaining high aroma retentions. Favourable conditions can be obtained in spray drying and in freeze drying.

Spray drying

Flavour retentions were studied in an experimental spray dryer having an internal diameter of 150 cm, a length of the cylindrical part of 250 cm, and a height of the lower conical part of 100 cm. The hot air is equally distributed through the perforated inner ceiling of the tower. The liquid is pressure atomized at a distance of about 20 cm from the ceiling. The air-droplet contact is cocurrent and the majority of the dry particles are separated from the air by gravity in the conical bottom of the tower. The particles remaining in the exhaust air are separated in a cyclone. Concentrated coffee extract was freed from the aroma components by vacuum steam stripping. To the aroma-free extract methanol, acetone, pinakolin and ethylene were added in p. p. m. amounts. The « model » aromas retained in the dry powder were analysed gaschromatographically. The results are collected in figure 5. Noteworthy in figure 5 is the strong influence of the dissolved solid content of the feed upon flavour retention and the insensitivity of the retention to the relative volatility of the model aroma components.

Theoretical approach : as long as the diffusion coefficient D_j of the volatile aroma component j remains unchanged, the loss of volatiles from a droplet is determined by the Fourier number

$$F_0 = \frac{D_j t}{a^2} \quad (7)$$

where t is time elapsed after formation of the droplet and a is the droplet radius.

The relation between the Fourier number and aroma retention (for zero interfacial aroma concentration and constant D_j) is presented in figure 6. If we assume D_j at the surface of the droplet to be constant down to the critical moisture content, say 15 wt %, and assume the surface to become instantaneously impermeable for component j at lower surface water concentrations, the aroma can be lost only during the time t_0 it takes to lower the surface water concentration to 15 wt %. The loss of aromas can now be calculated from equation (7) and figure 6 by inserting the value of the droplet radius a , the diffusion coefficient D_j and the numerically

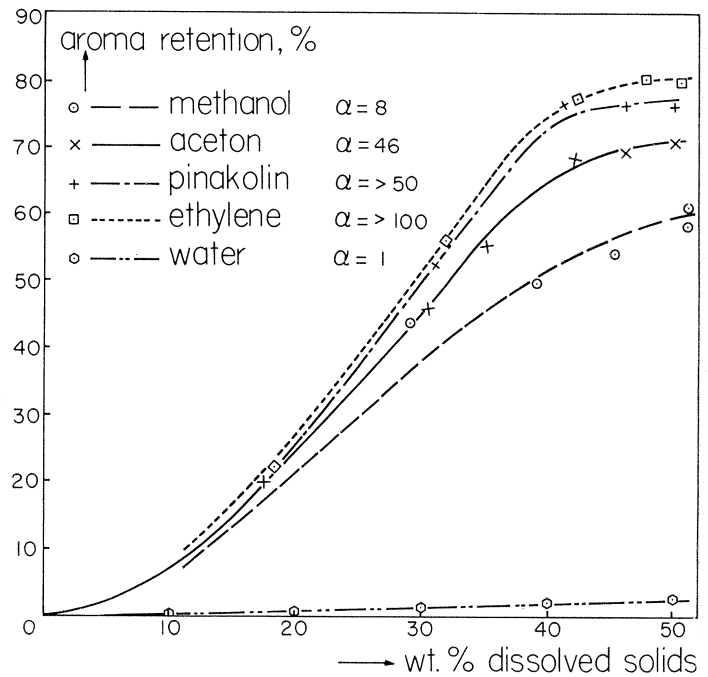


Fig. 5. — Effect of dissolved solids concentration on aroma retention in spray drying coffee extract. Rest moisture content is about 3 wt %

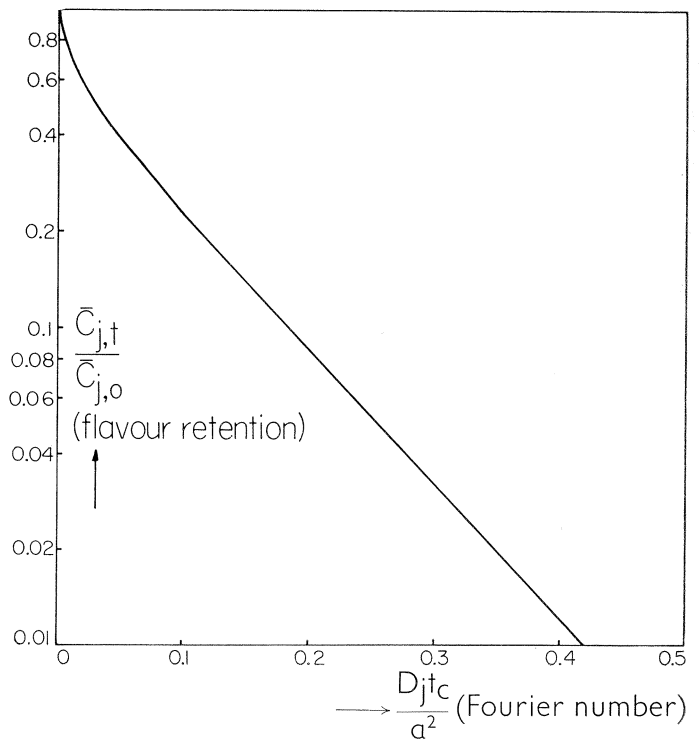


Fig. 6. — Effect of Fourier number on aroma retention

calculated value of t_c . From equation (7) it will be clear that a decrease of the droplet diameter by a factor of 2 and a decrease of t_c by a factor of 4 results in a constant retention of flavour component j .

For small droplets holds the relation

$$\frac{2 ak'_w}{D_w} = \frac{2 \pi^2}{3} \quad (8)$$

hence a reduction of the droplet radius by a factor of 2 results in a doubling of the mass transfer coefficient k' . It can be deduced from figure 4 that above a value of k' of about 7 a doubling of that k' value results in a decrease of t_c by more than a factor of 4. Thus at a critical drop radius a_c the flavour retention will be minimal, and both a decrease and an increase in drop diameter will result in an increase of flavour retention.

Figure 7 shows the calculated retention of acetone in spray dried maltodextrin as a function of droplet diameter at zero water concentration in the air and a wet bulb temperature of 40° C ; the dissolved solids concentration is taken as parameter. The figure shows that provided the droplets remain rigid and do not expand, very high aroma retentions can be achieved. The relatively low aroma retentions as observed in spray drying coffee, see figure 5, can be ascribed to :

1. *The balloon-like expansion of the drops* : as soon as the surface of the droplet becomes covered with a very thin nearly dry skin, the temperature of the droplet starts to rise from the wet bulb temperature to the air temperature. After arriving at a temperature somewhat above 100° C, vapour bubbles are produced in the still undried centre, thus causing a balloon-like expansion of the drops. The vapour leaves the balloon through small craters in the surface. These craters can be observed under a microscope. The droplet now loses volatile flavours from both sides of the balloon wall.

2. *Low temperature and high relative humidity near the spray nozzle* : in the calculation it is assumed that the drops are equally contacted with the hot dry air. In reality, however, the droplet concentration in the vicinity of the nozzle is very high and the drops contact only a fraction of the hot air. The consequence of this is that in the neighbourhood of the nozzle the air temperature will be much lower and the relative humidity much higher compared to the case of ideal mixing. Since with no dry skin formation a droplet with a diameter of 50 microns loses its volatile aromas nearly completely within about 100 milliseconds, a slow skin formation can affect aroma retention quite seriously. Consequently it can be expected that an atomizing device, like a centrifugal disk, that does not produce a high droplet density near the atomizer but produces drops from a relatively large disk diameter perpendicular to the air stream, will give higher aroma retentions.

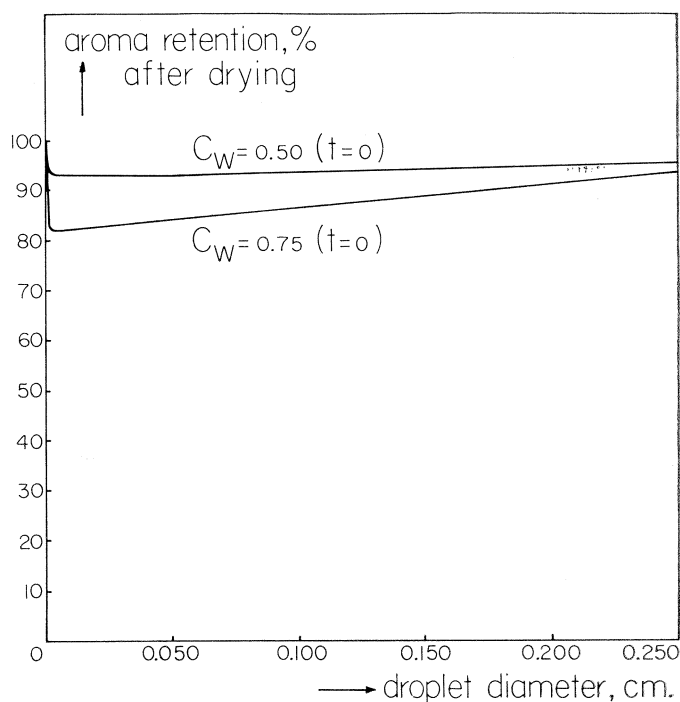


Fig. 7. — Calculated aroma retention in spray drying coffee extract

3. *Internal circulations in the drops* : it is assumed in the calculations that the drops are rigid right from the beginning. The formation of a drop, however, is coupled with strong circulations in the droplet. Experiments show that the addition of thickeners like gums or carboxy methyl cellulose to the feed causes a significant improvement in aroma retention.

Freeze drying

Aroma retentions reported in literature for freeze drying vary between less than ten percent and nearly ninety percent (1), (3), (7). Also in freeze drying the aroma components have relative volatilities well above one. The large variation in aroma retentions observed must be ascribed to the widely diverging freezing and freeze drying conditions. Some experimental results are given in figure 8, p. 114. The overall effect of increasing the dissolved solids concentration of the feed is most likely an increase in aroma retention.

Theoretical approach : the ice crystals in frozen tissues or liquids are essentially pure. The aroma components are all concentrated in the semi liquid or glass like phase. This liquid phase has a honeycomb like structure. The water concentration in the liquid phase is a function of temperature. At phase equilibrium the tem-

perature of the frozen material is exactly equal to the freezing temperature of the liquid phase. Figure 9 shows the freezing temperature of some aqueous solutions. With the retreat of the ice front, the aroma components together with the residual water may diffuse from the liquid matrix into the gas pores. At the prevailing freeze drying temperatures (ice front temperature between -10 and -25°C) the water concentration of the liquid phase varies between 20 and 30 wt %. At such high water contents the diffusivities of the aroma components are still appreciable.

A drying slab is shown schematically in figure 10. The aromas can only escape the liquid layer at and above the ice front ; the ice layers are completely impermeable for other components. Because of the temperature gradient in the dry porous layer and/or the water vapour pressure gradient in that layer, the surface water concentration at the gas — liquid interface decreases with an increase of the distance from the ice front. At a distance l from the ice front the interface water concentration of the liquid matrix has decreased below the critical value of 15 wt % water. Thus only over distance l can the porous layer lose its aroma. The aroma still present in the walls at a distance larger than l from the ice front is immobilized and will be completely retained. It can be derived that the length l is by good approximation inversely proportional to the velocity of retreat v of the ice front and directly proportional to the mean diffusion coefficient of water in the layer, thus

$$l = b_1 D_w/v \quad (9)$$

In the liquid layer below the ice front the diffusion of aromas is, as demonstrated for coffee extract, still appreciable. In figure 10, h denotes the depth in the frozen layer having, as a consequence of the high diffusivity, an aroma concentration about equal to the concentration in the liquid walls at the ice front. The depth of penetration h is directly proportional to D_j and inversely proportional to the velocity of retreat of the ice front, thus

$$h = b_2 D_j/v \quad (10)$$

The effect of the diffusion of aromas from the liquid or glass like phase in the frozen layer to the sublimating ice front is that aromas are lost already from a given depth before that level is reached by the ice front.

From a mass balance in the frozen part of the slab and equations (9) and (10) it can be derived for the concentration of the fixed aroma C_j in the dried layer at $y = z - l \simeq z$ that

$$\frac{C_{j,z}}{C_{j,0}} = \frac{ah}{1+ah} \exp\left(-\frac{(1+ah)z}{h}\right) + \frac{1}{1+ah} \quad (11)$$

where $a = \frac{b_3}{\delta} \left(\frac{D_w}{D_j}\right)^{\frac{1}{2}}$ and δ is the mean thickness of

the liquid walls between the open pores.

The wall thickness increases with an increase of the dissolved solids content of the liquid. If we denote the

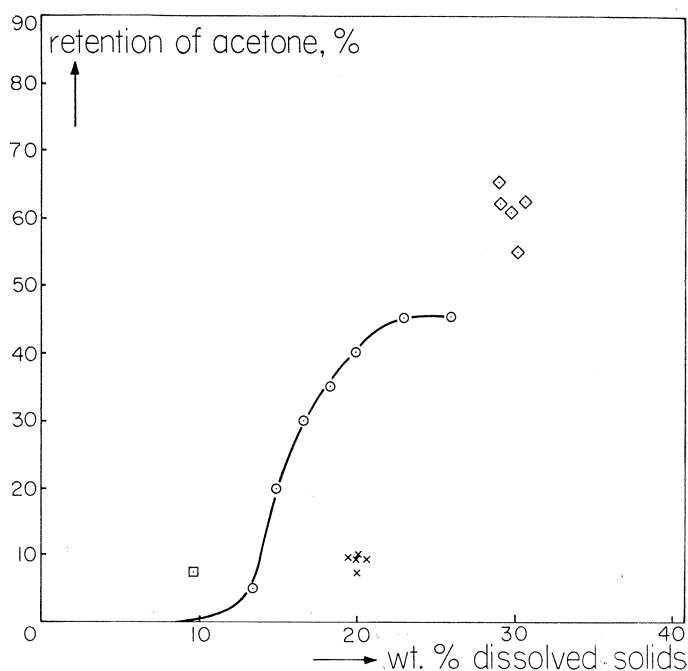


Fig. 8. — Effect of dissolved solids concentration on aroma retention in freeze drying

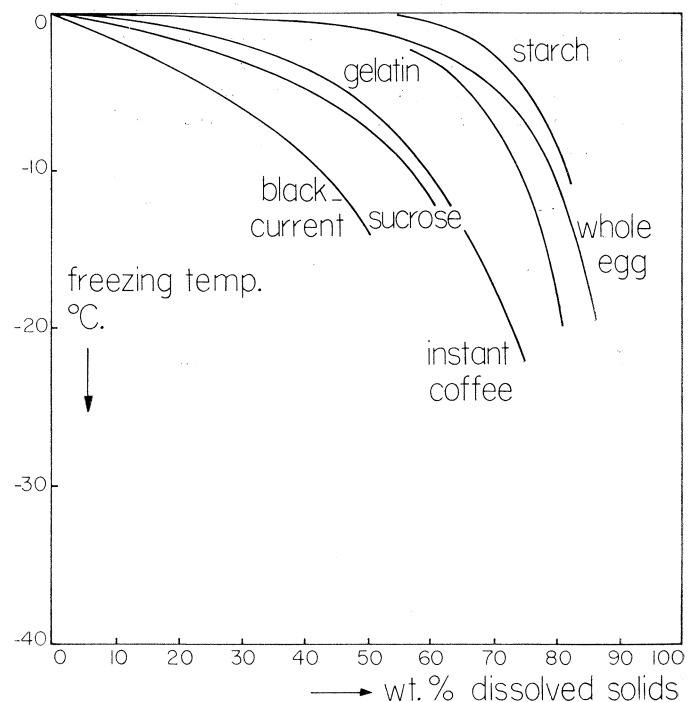


Fig. 9. — Equilibrium freezing temperatures of some aqueous solutions

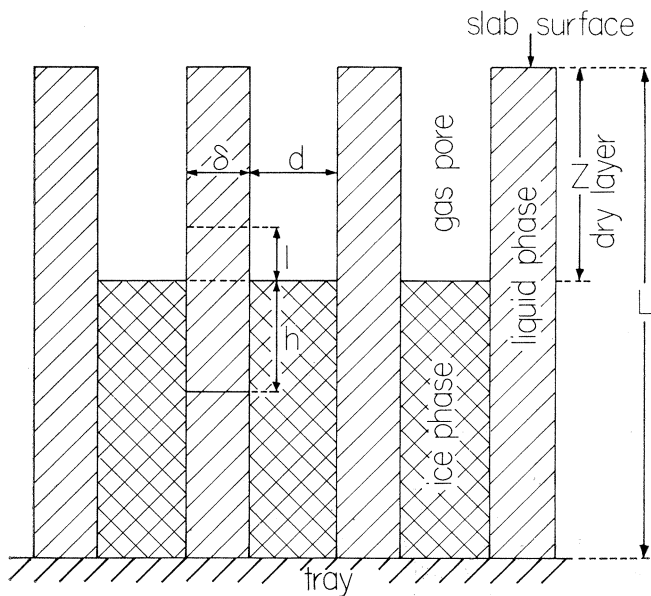


Fig. 10. — Schematical presentation of a freeze drying slab

concentration of component j at depth $z = L - h$ by $C_{j,z=L-h}$ the concentration at $(L - h) \leq z \leq L$ becomes

$$\frac{C_{j,z}}{C_{j,z=L-h}} = \left(\frac{L-z}{h}\right)^{ah} \quad (12)$$

In the derivations of equations (11) and (12) the drying rate is taken constant with time. By integrating the equations (11) and (12) over the slab thickness $z = 0$ to $z \leq L - h$ and $(L - h) \leq z \leq L$ respectively at constant value of v , the retention of aroma component j can be obtained as a function of z/L .

The aroma retentions calculated with equations (11) and (12) are plotted for some values of a and h together with experimental values of SARAVACOS (6) in figure 11. It is obvious that the trend of the calculated aroma retention with progress of drying time fits the experimental values surprisingly well.

EFFECT OF DRYING TEMPERATURE ON THERMAL DEGRADATION OF AROMAS

At low conversions the thermal degradation is directly proportional to the reaction time and the reaction rate constant. If the drying is controlled by the gas phase and the water concentration in the bulk of the gas phase is negligible, the drying rate is directly proportional to the equilibrium water vapour pressure of the product. At the other extreme the drying is controlled by the diffusion coefficient of water in the solid or liquid phase. The effect of temperature upon the water vapour pressure and the diffusion coefficient is expressed by the

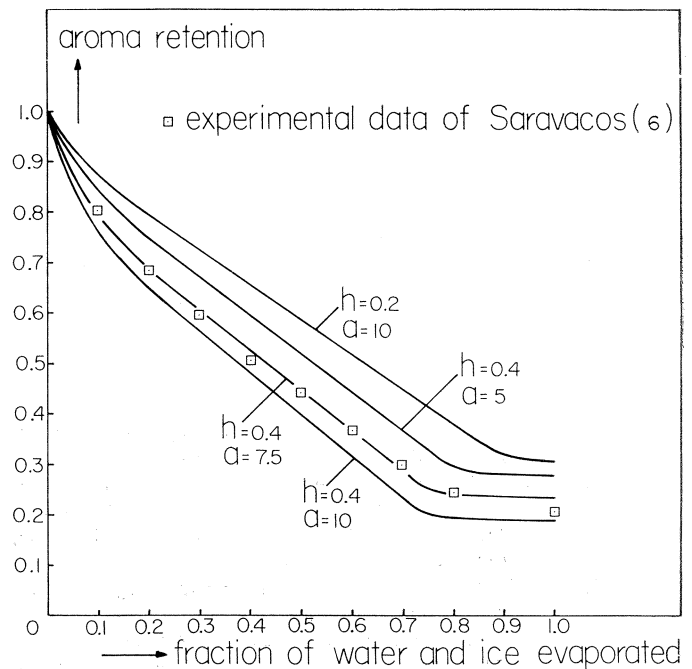


Fig. 11. — Calculated effect of a ($=$) cm^{-1} and h ($=$) cm on aroma retention with progress of drying. The experimental points are obtained for a 10 wt % pectin L. M. gel at 30°C surface temperature (6)

The conclusion that can be drawn from the drying model and the diffusion concept described above is that the aroma retention strongly increases with an increase in drying rate v , an increase in wall thickness δ of the liquid between the pores, and a decrease of the water concentration in the liquid phase at the ice front. The wall thickness δ increases and the attainable drying rate increases with a decrease of the freezing rate of the material. The consequence of this is that the freezing rate has a marked effect upon aroma retention and must be kept as low as possible.

respective energies of activations. According to FISH (8) the energy of activation for diffusion E_{Dw} in starch varies between the value 4.5 kcal/mol at high water concentrations to 9.8 kcal/mol at a moisture of only 0.8 wt %. The energy of activation of the water vapour pressure E_{Pw} is about 10 kcal/mol. Thus depending on the water content and the controlling phase the overall energy of activation of the drying rate varies between the extremes 4.5 and 10 kcal/mol.

The energy of activation of most chemical non-enzym-

matic processes varies between 15 and 30 kcal/mol. From this it may be concluded that at a low water vapour pressure in the surrounding gas atmosphere, a decrease in the drying temperature will always result in a decrease of thermal degradation.

The author is indebted to P. de Gruyter and Sons N. V., 's-Hertogenbosch, for giving permission to make use of some valuable data of their research department.

REFERENCES

1. THIJSSSEN, H. A. C. and RULKENS, W. H. — *De Ingenieur*, **80**, 47, CH45, (1968).
2. MENTING, L. C. — Retention of volatiles during the air drying of aqueous carbohydrate solutions, Ph. D. thesis, Technische Hogeschool Eindhoven, February (1969).
3. REY, L. R. — Lebensmittel Gefriertrocknung, Gefriertrocknungstagung Köln, Leybold Hochvacuum Anlagen G. m. b. H., Köln, Bayenthal (1962).
4. KALLISTRATOS, G. and SENGBUSCH, von R. — *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, **126**, 344 (1965).
5. SARAVACOS, G. D. — *Food Technology*, **19** (4), 193 (1965).
6. SARAVACOS, G. D. and MOYER, J. C. — A. I. Ch. E. Annual Meeting, Detroit, Michigan, December 7 (1966).
7. SPANYAR, P., KEVEI, E. and SZÁRFÖLDI, I. — *Hütoiper*, **13**, 106 (1966).
8. FISH, B. P., FUND. — Aspects of the dehydration of Foodstuffs, Aberdeen Conference, March (1958).
9. NEMITZ, G. — *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, **123**, 1 (1963).

THIJSSSEN (H. A. C.). — **Influence des variables du procédé de séchage de l'extrait de café sur la conservation de l'arôme.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 108-117, fig., tabl., réf.

Une diminution de la teneur en eau de l'extrait conduit à une forte diminution de la valeur du coefficient de diffusion, D_j , des constituants aromatiques volatils et du coefficient de diffusion de l'eau, D_w . A des concentrations en eau inférieures à 15 p. 100 (en poids), le rapport D_j/D_w devient si faible que le système n'est plus perméable qu'à

THIJSSSEN (H. A. C.). — **The effect of process variables on aroma retention in drying coffee extract.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 108-117, fig., tabl., réf.

A decrease of the water content of coffee extract is found to result in a strong decrease of the ratio of the diffusion coefficient D_j of the volatile aromas and the diffusion coefficient D_w of water. At water concentrations below about 15 wt % the ratio D_j/D_w becomes so low that the system is still

LIST OF SYMBOLS

- a = radius of drying droplet ;
- b = constant ;
- c = concentration (grams per) ;
- D = diffusion coefficient ;
- E = energy of activation ;
- F = evaporation flux ;
- F_o = Fourier number ;
- h = depth below ice front exchanging aromas with ice front ;
- k' = mass transfer coefficient in gas phase ;
- l = height above ice front losing aromas ;
- P^o = vapour pressure of pure component ;
- R = aroma retention ;
- t = time ;
- v = velocity of retreat of ice front ;
- W = amount of a component present in the sample ;
- z = coordinate of length ;
- $\alpha_{j,w}$ = relative volatility ;
- γ = activity coefficient ;
- δ = thickness of liquid layers between ice crystals or gas pores ;
- ρ = density.

Subscripts

- D_w = diffusion coefficient of water ;
- j = aroma component j ;
- t = at time t ;
- w = water.

Superscripts

Accent denotes gas phase.

* In equilibrium with other phase.

THIJSSSEN (H. A. C.). — **Einfluss der Variablen des Trocknungsverfahrens für Kaffee-Extrakt auf die Konservierung des Aromas.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 108-117, fig., tabl., réf.

Eine Verminderung des Wassergehalts des Extrakts bewirkt eine starke Verminderung des Wertes des Diffusionskoeffizienten D_j , der flüchtigen Aromabestandteile und des Diffusionskoeffizienten des Wassers D_w . Bei Wasserkonzentrationen von weniger als 15 % (in Gewicht ausgedrückt) wird die Beziehung D_j/D_w derart gering, dass das System nicht mehr wasser-durchlässig ist. Indem man die Diffusionsgleichungen löst kann die Aroma-

l'eau. En résolvant les équations de diffusion, la rétention de l'arôme au cours du séchage de l'extrait de café peut être calculée à partir de la dépendance, qui a été observée, de D_j et de D_w vis-à-vis de la concentration en eau et des isothermes expérimentaux de la pression de la vapeur d'eau.

La faible perte en constituants aromatiques dans le cas des extraits de café, ou des solutions types, séchés par atomisation est expliquée quantitativement. En créant une forte concentration d'eau à la surface des gouttelettes en cours de séchage, on peut conserver jusqu'à 100 p. 100 de l'arôme. La conservation des constituants aromatiques au cours de la cryo-déshydratation est également due au relativement faible pouvoir de diffusion des constituants volatils du concentré liquide entre les cristaux de glace. La diffusion type présentée montre une forte augmentation de la rétention de l'arôme correspondant à une diminution de la vitesse de congélation de l'échantillon et à une augmentation de la vitesse du séchage.

permeable for water only. By solving the diffusion equations the aroma retention during the drying of coffee extract can be calculated from the observed water concentration dependence of D_j and D_w and the experimental water vapour pressure isotherms.

The low loss of very volatile aromas in spray drying coffee extract or model solutions is explained quantitatively. By inducing very steep water concentration gradients at the surface of the drying droplets, aromas can be retained up to 100%. Retention of aromas in freeze drying is also due to the relatively low diffusivity of the volatiles in the liquid concentrate between the ice crystals. The diffusion model presented shows a strong increase of aroma retention with decrease of freezing rate of the sample and increase in drying rate.

zurückhaltung während der Kaffee-Extrakttrocknung von der festgestellten Abhängigkeit von D_j und D_w gegenüber der Wasserkonzentration und den Versuchsisothermen des Wasserdampfdrucks aus berechnet werden.

Der geringe Verlust an Aromabestandteilen bei Kaffee-Extrakten oder Modellösungen die mit Hilfe der Zerstäubung getrocknet wurden wird quantitativ erklärt. Indem man eine starke Wasserkonzentration an der Oberfläche der trocknenden Tröpfchen hervorruft kann man bis zu 100 Prozent des Aromas bewahren. Die Konservierung der Aromabestandteile während der Gefriertrocknung ist auch auf das verhältnismässig geringe Diffusionsvermögen der flüchtigen Bestandteile des flüssigen Konzentrats zwischen den Eiskristallen zurückzuführen. Die gezeigte Modellösung weist eine starke Zunahme der Zurückhaltung des Aromas auf, die einer Verminderung der Geschwindigkeit des Musters beim Gefrieren und einer Erhöhung der Geschwindigkeit beim Trocknen entspricht.

DISCUSSION

M. NAVELLIER : M. Thijssen vient de faire un exposé magistral et je retiendrai tout le profit qu'il a su tirer de la liaison entre les connaissances fondamentales, du point de vue chimique et physique, et les connaissances appliquées dans le domaine industriel.

Cette liaison entre l'étude des composants aromatiques du café et les règles physiques qui permettent la rétention ou la perte de substances, permettra de mieux imaginer les procédés grâce auxquels il sera possible d'utiliser au mieux le café.

M. PAARDEKOOPEL : In the slide showing the aroma retention of several chemical compounds, I noted the relatively low retention of methanol compared to ethylene. Am I right saying that the retention cannot be attributed to the values of the diffusion coefficients only.

M. THIJSSEN : The model I presented is a simplification of the more complex reality. In fact we should have used thermodynamic activities of the migrating compounds in stead of concentrations. The qualitative effect of the different process variables as predicted by the simplified model and the more exact solution, however, are the same.

QUANTITATIVE COMPARISON OF GL CHROMATOGRAMS OVER LONGER PERIODS OF TIME

S. VAN STRATEN, T. de NIE

Central Institute for Nutrition and Food Research, TNO, Zeist

When a complex mixture of volatiles over some food item is analyzed gaschromatographically and the results have to be compared quantitatively with the analysis of a sample of the mixture studied at an earlier date on the same column, difficulties may arise. This is caused by the fact that the column, as well as the sample analyzed earlier, may both have altered. In general, when analyzing food products, we have to bear in mind that they cannot be stored over longer periods of time without changes to occur in their odour. Earlier samples, therefore, cannot be used as references at the moment that new samples, which have to be compared with the old ones, are received for analysis. Working either

with material susceptible to alteration or — by necessity — without reference samples, we cannot but compare the earlier chromatograms of the old samples and the new ones, while taking all possible precautions for standardizing the gaschromatographic conditions.

Some types of gradual alterations of gaschromatographic columns during use, are easily recognized when qualitative analyses are carried out. A few of the well known indications for such alteration of columns are peak broadening, tailing and changes of relative retention times caused by changes of the polarity of the column. They can be expressed in the number of theoretical plates, separation factors, etc. We never realized, however, that quantitative results on columns that did not show any of the regular aspects of alteration mentioned, could be influenced by other, unknown, forms of alteration to such an extent as we had an opportunity to observe. The following is intended to give an example of specific changes which may occur in a column and in what way they can be of influence on quantitative analyses.

Over a period of about two years we routinely analyzed successive batches of mint oil of which it had to be ascertained whether they were identical with earlier batches or not. The samples were received with intervals of about three months and each sample was analyzed gaschromatographically parallel with a sample that had been analyzed before.

The chromatograms were compared and the ratios of peak areas measured in order to decide whether the new samples were identical with the old ones or not. At times samples had to be compared with earlier samples which had been analyzed up to ten months before. The same gaschromatographic column was used for all runs.

The results on successive samples of an oil are given in table 1.

As can be seen from the table the ratio of menthone over menthol, which are two important components of the mint oils that were analyzed, increased significantly over a period of about two years. The parallel runs of

S. van STRATEN



TABLE 1

Ratios of the areas of menthone over menthol peaks in chromatograms of mint oil A

Age of column	0	2 months	12 months	19 months	21 months
Sample					
1	0.70	0.71	—	—	—
2	—	0.73	0.75	—	—
3	—	—	0.76	0.78	—
4	—	—	—	0.82	1.08
5	—	—	—	—	1.05

the new and the earlier sample, both analyzed on the date of receipt of the new sample, showed the same ratios (vertical reading) while the increase with time of menthone over menthol was found between the former and the new set of parallel runs (diagonal reading).

An example of another mint oil is given in table 2. This second set of samples showed the same phenomenon of changing menthone over menthol ratios. No change in any ratio of other peaks could be observed during the period of the experiment, nor was any normal feature of column alteration seen.

At this point two conclusions could be suggested :

1. The column showed an unusual and as yet unknown form of alteration.

2. The old and the new sample altered continuously in the same way ; presumably the new samples, although received at a later date, had been stored also.

No decision, however, could be reached on this alternative nor of the similarity or dissimilarity of the oils.

Before discussing the results of further experiments, the following gaschromatographic details are given :

A column of 4 m, made out of aluminium, with an i. d. of 4 mm was filled with 20 % diethyleneglycoladipate (Lac I R 296) on Chromosorb W — A. W. The oven temperature and detector temperature were 135°C and 175°C respectively. A thermal conductivity detector was used. The carrier gas was hydrogen with a flow of 60 ml/min. Amounts of a $\frac{1}{2}$ — 1 μ l were injected. The column was only used for the analyses of mint oils and for compounds which were identified in mint oils. In the following this column will be referred to as the « mint column ».

At the time when the increase of the menthone-menthol ratio was observed, three other columns with the same stationary phase and support were available for analysis. These columns, one of which had been used over longer periods of time at a temperature of 170°C for the separation of aliphatic acids, were tested with a sample of the mint oils. Each column was tested in

TABLE 2

Ratios of the areas of menthone over menthol peaks in chromatograms of mint oil B

Age of column	2 months	5 months	12 months	16 months	19 months	21 months
Sample						
1	0.57	0.56	—	—	—	—
2	—	0.56	0.64	—	—	—
3	—	—	0.59	0.69	—	0.80
4	—	—	—	0.75	0.73	0.92
5	—	—	—	0.77	—	0.93
6	—	—	—	—	0.73	0.91
7	—	—	—	—	—	0.89

another apparatus. The resulting chromatograms of these columns, even of the column that was maltreated with acids, and the menthone-menthol ratios calculated from the chromatograms were found to be equal to each other and to the very first chromatograms and ratios of the « mint column ».

Further experiments were executed with two standard mixtures of ethyl-nonylketone, and menthone or menthol respectively. These standard mixtures were tested on the « mint column » and on the three columns just mentioned. Some of the columns could be examined in the same apparatus. In the chromatograms the peak areas of ethyl-nonylketone, menthone and menthol were measured whereupon the ratios of menthone over ketone, menthol over ketone and methone over menthol were calculated. The results of these experiments are given in Table 3.

TABLE 3

Ratios of peak areas of menthone and menthol over ethyl-nonylketone in chromatograms of standard mixtures

Column	Apparatus	Menthone	Menthol	Menthone
		Ketone	Ketone	Menthol
« Mint column » (Lac I R 296)	I	0.62	0.58	1.07
« other column » A.	II	0.66	0.94	0.70
« other column » A.	III	0.66	0.94	0.70
« other column » B.	III	0.65	0.92	0.71
« other column » C.	I	—	0.93	—

From these data it can be concluded that the menthone behaves normally in all columns while the menthol is either adsorbed in the « mint column » or reacts in some other way with the material of this column. It was impossible to get any further information on this phenomenon, especially with regard to the role of the support or the stationary phase, because the observations were made with a column which was about two years old. Since then, new batches of support and stationary phase

were received and used for the other columns. In the « mint column » neither the formation of new compounds when menthol was injected, nor a possible saturation of the column, could be observed. Whether adsorption or chemical reaction was responsible for the « loss » of menthol, therefore, cannot be decided.

A comparable example of some specific, unknown behaviour of a column was observed with a TCEP (tricyanoethoxypropane) column. On this type of column the lower boiling volatiles of fermented beverages are determined qualitatively and quantitatively. With one particular batch of the TCEP stationary phase the acetic aldehyde disappeared completely and no peak of the aldehyde could be seen in the chromatogram. In this instance it could be shown that the extraordinary behaviour, observed with all columns prepared with this particular batch of phase, was caused by the phase.

After the discussion of these rather negative aspects of quantitative analyses, two questions can be raised.

1. Will it be possible to recognize specific alterations of columns ?

2. What precautions have to be taken to correct the results of experiments over longer periods of time, when

either the column has altered or another column has to be used ?

The first question can be answered in the affirmative whenever the components to be determined quantitatively, are known compounds. In that case each column can be tested with a standard mixture before the actual analysis. These mixtures should be composed of known amounts of pure chemicals, identical to the compounds identified in the samples to be analyzed. If, on the other hand, the components of a sample are unknown, nothing can be done to test a column for any specific alteration which influences the peaks of these unknown compounds. Naturally the column can and should be tested, for normal alteration effects with well chosen standard mixtures. As an example the analysis of mint oil demonstrates the necessity to use test mixtures. Without knowing the identity of the components of mint oils it would not have been possible to choose menthone and menthol for the test mixtures.

To answer question number 2 we again have two possibilities. If the components of a sample are unknown nothing can be done to correct the measurements made on an altered column. If the components to be determined are known, however, correction factors can be established by running test mixtures of known ratios parallel with the samples.

VAN STRATEN (S.), DE NIE (T.).
— **Comparaison quantitative de chromatogrammes (gaz-liquide) effectuée sur de longues périodes de temps.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969, A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 118-121, tabl.

Quand des échantillons de mélanges complexes doivent être comparés par chromatographie en phase gazeuse à des échantillons étudiés antérieurement sur les mêmes colonnes de chromatographie, des difficultés se présentent si on observe des variations. Ou bien la colonne ou bien l'échantillon se sont altérés et on ne peut déterminer si les échantillons sont identiques ou non.

Les auteurs donnent des exemples de colonnes et d'échantillons qui se sont modifiés avec le temps. Des mélanges standards correspondant à la composition moyenne des échantillons sont utilisés pour vérifier si la colonne s'est modifiée et quelles sont ses propriétés analytiques.

VAN STRATEN (S.), DE NIE (T.).
— **Quantitative comparison of GL chromatograms over longer periods of time.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969, A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 118-121, tabl.

When samples of complex mixtures have to be compared by gaschromatography with samples that were studied earlier on the same chromatographic column, difficulties arise when variations are observed. Either the column or the sample may have been altered and no decision can be reached on whether the samples are identical or not.

Examples are given of columns as well as of samples that have changed with time. Standard mixtures adjusted to the average composition of the samples are used to check on the possibility of the column having changed in its analytical properties.

VAN STRATEN (S.), DE NIE (T.).
— **Quantitativer Vergleich von Gaschromatogrammen die über längere Zeitperioden erzielt wurden.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969, A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 118-121, tabl.

Wenn Proben komplexer Mischungen gaschromatographisch mit anderen früher auf den selben chromatographischen Säulen geprüften Proben zu vergleichen sind ergeben sich Schwierigkeiten falls Variationen festgestellt werden. Entweder die Säule oder die Probe hat sich geändert und es ist nicht möglich nachzuweisen, ob die Proben übereinstimmen oder nicht.

Die Autoren führen Beispiele von Säulen und Proben an die sich mit der Zeit geändert haben. Standardmischungen, die der durchschnittlichen Zusammensetzung der Proben entsprechen, werden verwendet, um nachzuprüfen, ob die Säule sich geändert hat und welches ihre analytischen Eigenschaften sind.

DISCUSSION

M. REYMOND : By working on tea aroma separation with a trimer acid capillary column, we observed a fixation of two alcohols : geraniol and benzylalcohol.

Could the fixation of menthol on your aged column be explained by an adipic or polyadipic acid formation ?

M. Van STRATEN : I have not made any experiment in that direction but thank you for your suggestion.

M. WALTER : Auf dem ersten Dia fällt der Wert für eine Lagerungsfrist von 21 Monaten, verglichen mit dem Wert für 19 Monate, auffällig aus der Reihe der übrigen heraus. Haben Sie eine Erklärung dafür ?

M. Van STRATEN : As for the results given in table 2, we started with the first sample of mint oil B on receipt, that is exactly 2 months after receipt of the first sample of mint oil A. The age of the column is, therefore, exactly the same as the age of sample A (21 months) at the end of the experience.

(Note : In view of this question the author has amended tables 1 and 2 in order to prevent further confusion.)

M. HAEVECKER : You said in your speech that the mint oil column was used for mint oil analyses exclusively. Everyone knows how difficult it is to get equilibrium in a freshly filled column and in some laboratories the analysts even guard their own columns very jealously. However, there is a danger of over-doing the so-called column memory which can work both ways.

We have found on various aroma analyses that it might be more effective to reject a completely stable column, with all its advantages and its disadvantages, give various tasks to this column and rinse the column once in a while with a mixture as simple as water and formic acid (50 : 50). Nothing should be seen on FID if one uses this mixture (5 to 10 μ l).

One could be surprised of the number of peaks suddenly appearing when you rinse your column.

HEADSPACE ANALYSIS OF LESS VOLATILE CONSTITUENTS OF COFFEE

J. PYPKER, H. BROUWER

D. E. J. International Research Co. (INTER) N. V., Utrecht

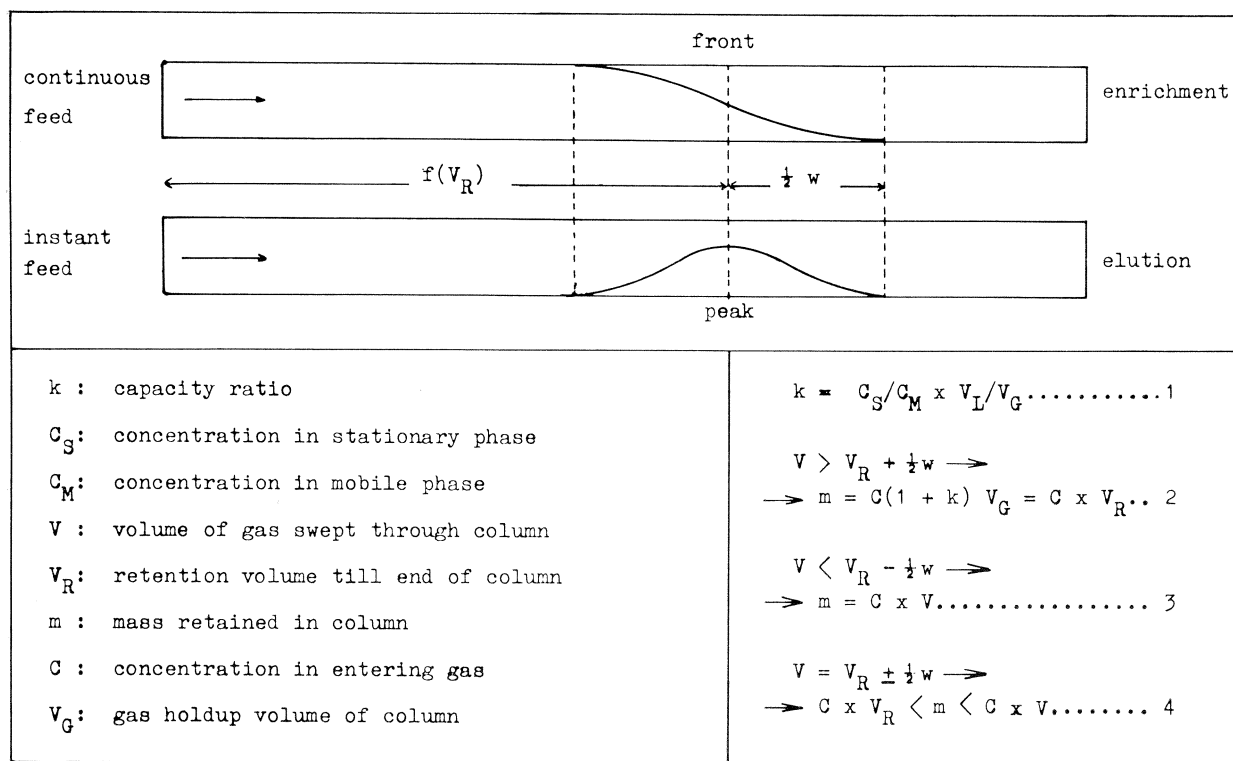
When some milliliters of coffee headspace are injected into a gaschromatograph, only a few of those volatiles which leave the polar columns after water are detectable. The vapour-pressures and hence the concentration of these long retained components are too low.

In order to extend headspace analysis of coffee or coffee brew to more of these constituents with low vapour-pressures we developed a procedure to collect them from a hundred fold higher sample volume in a short auxiliary column. In this process part of the high volatiles and water are discarded.

The principle of the method used is theoretically treated by NOVAK *et al* (1965). In another context it is also mentioned by KAISER (1968). It is explained in a simplified form in figure 1.

When a stream of inert gas with a very low content of vapours is continuously swept through a short column each component will be distributed between the mobile and the stationary phase. This distribution is described by formula 1.

Fig. 1. — Theory of enrichment gaschromatography



The result will be that in the column a concentration profile will take the form of a front that moves to the column outlet. In this kind of chromatography the same factors — as known from the more familiar elutionchromatography — determine component transport and spreading. Therefore an analogy as depicted in figure 1 can be used to understand and describe the process.

At the left side of the front the concentration in the stationary phase is in equilibrium with the concentration C of the vapour in the entering gas. That means that the mass of vapour component in that part of the column stays constant. When the front has completely passed the column the retained mass m in the whole column will therefore be given by formula 2. From that it follows that the more material is retained as k or V_R are higher. In other words : assuming the same stationary phase and temperature, slow moving compounds that give low and broad and therefore hardly detectable peaks in elutionchromatography, are now specifically retained — and thus enriched — as compared to fast moving

components. Therefore we call this procedure « enrichment chromatography ».

The fronts of very slow moving components can still be inside the column when the gas flow is stopped. In this case formula 3 gives the retained mass m , in which V stands for the volume of gas led through the column.

When the front is just passing the end of the column — when the flow is stopped — m will have a value somewhere in between CV and CV_R .

As the C 's are small, V or V_R must be high to collect detectable masses of m . This implies that the packing and the temperature must so be chosen that k is high, in other words that the compounds of interest are for the greater part absorbed in the stationary phase. k is dependent on temperature in a logarithmic way. Roughly we can say that k becomes $2x$ smaller when the temperature is raised $30^\circ C$ and vice versa. This means that, when the gas flow is stopped and the enrichment column

has cooled, the trapped compounds are almost completely absorbed in the stationary phase. Therefore it is possible to work with the system for a short while without perceptible losses of the components of interest from the column.

With this in mind we came to the experimental set-up of enrichment chromatography as depicted in figure 2 : The enrichment column is mounted in open connection with a serum-bottle containing the sample.

Both are heated to $80^\circ C$ by water from a precision thermostat equipped with a circulating pump. A slow stream of nitrogen is turned on after temperature equilibrium is reached. This stream sweeps volatiles from the headspace over the coffee into the enrichment column and leaves the apparatus through flexible tubing inside the circulating water. The volume V is measured in a calibrated vessel. This arrangement is chosen to prevent wetting of the stationary phase in the column by condensing water. For the same reason the bottle is heated by the last part of the water circuit.

The equipment is so constructed that coffee constituents only contact glass or P. T. F. E. Connections between

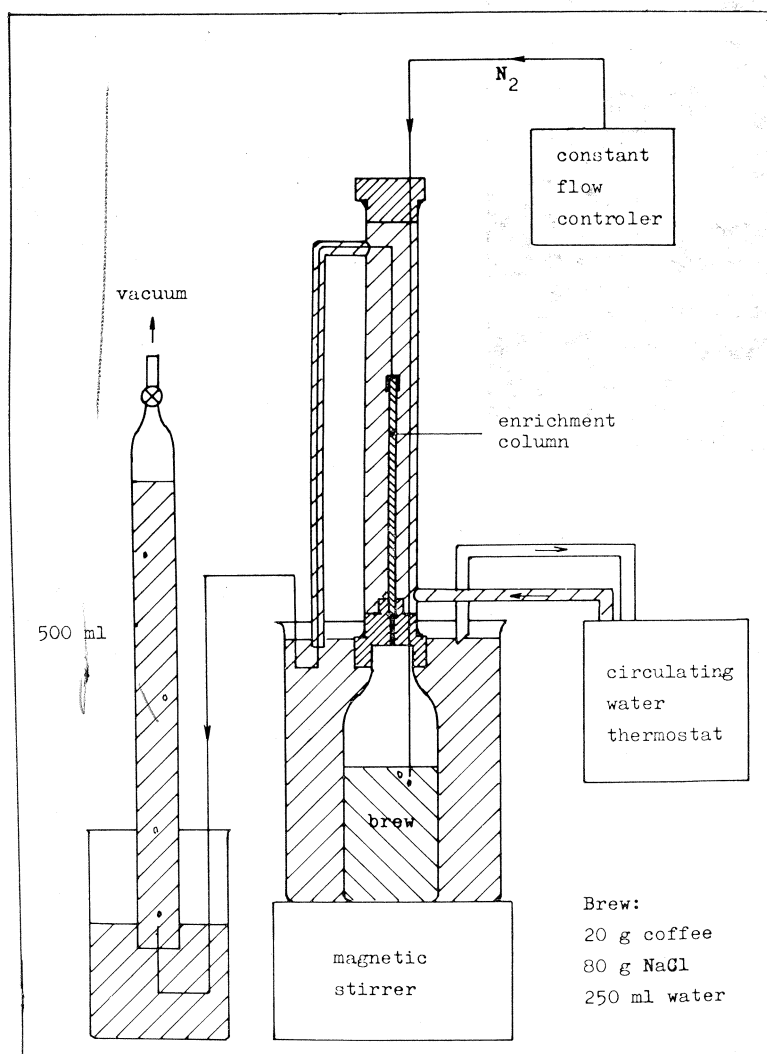


Fig. 2. — Experimental set-up of enrichment G. C.

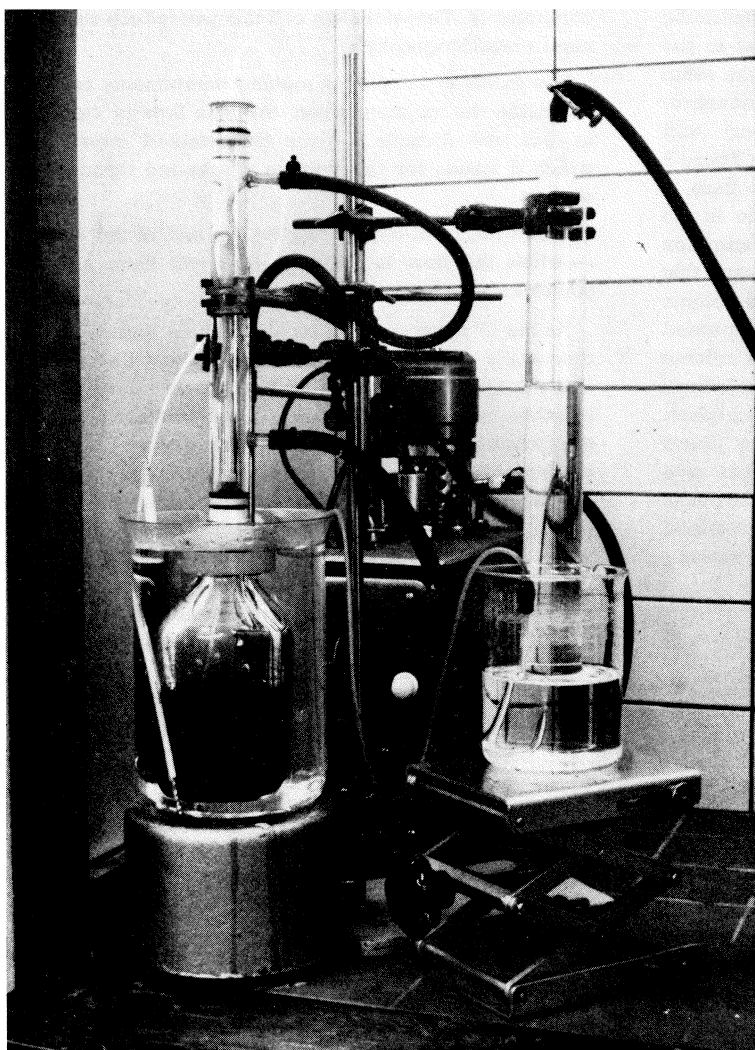


Fig. 3. — Apparatus for enrichment gaschromatography

the parts are sealed by O-rings so that the apparatus can easily be dismantled (see figure 3).

At the end of the enrichment process the volatiles are located — for the greater part absorbed in the stationary phase — over the whole or part of the column length.

When a sample is injected on a column for elution-chromatography one has to keep in mind that each component must start this process in a very short time : the initial band spreading must be in the order of a tenth or less of the peak width originating from the elution process itself, to prevent serious loss of resolution (CRAMERS '67).

To make this possible we place the enrichment column

in the carrier gas supply line of an elution column with the help of a specially designed injection system depicted in figure 4.

The enrichment column is fastened by two O-rings in a cup at the end of the pushing rod. This end of the column was the outlet in the enrichment process. A hole in the cup ensures that the gas pressure at both ends of the column is equal when, after connecting the two parts of the injection-lock, the ball-valve is opened. When the enrichment column is now pushed into the oven and the free end passes the single O-ring near the bottom, the carrier gas starts to flow through the small column and moves the components in the direction of the main column. Both columns are filled with the same stationary phase. The inside diameter of the small column is smaller than that of the main column. The temperature in the injection oven is much higher than the temperature of the main column at this stage. As a consequence of the higher linear gas velocity — and the higher and rapidly increasing temperature in the small column — the components move much faster here than in the main column. Moreover the last part of a broad initial zone moves faster than the first part because it travels at a higher mean temperature. In this way the broad zones in the enrichment column are contracted to much smaller ones in the elution column.

After this sample transfer the main column can be programmed to develop the chromatogram in a reasonable time. Some results obtained in this way are given in figure 5 (p. 126), in which chromatograms are shown of a Robusta coffee and an Arabica coffee. The retention times of some pure components are indicated to illustrate which components are collected by this sampling technique. In the region of some phenolic compounds peaks are higher in the chromatogram of Robusta coffee.

To get chromatograms with more resolution one has to resort to a highly efficient column. We know from experience that the best results are obtained with porous layer open tube columns, in particular of the type described by GROB ('65, '68). They give a combination of high resolution and a moderate working temperature in inert material. Therefore they are ideally suited for aroma research.

In such columns the velocity of the components is very high. Excessive band spreading by too slow injec-

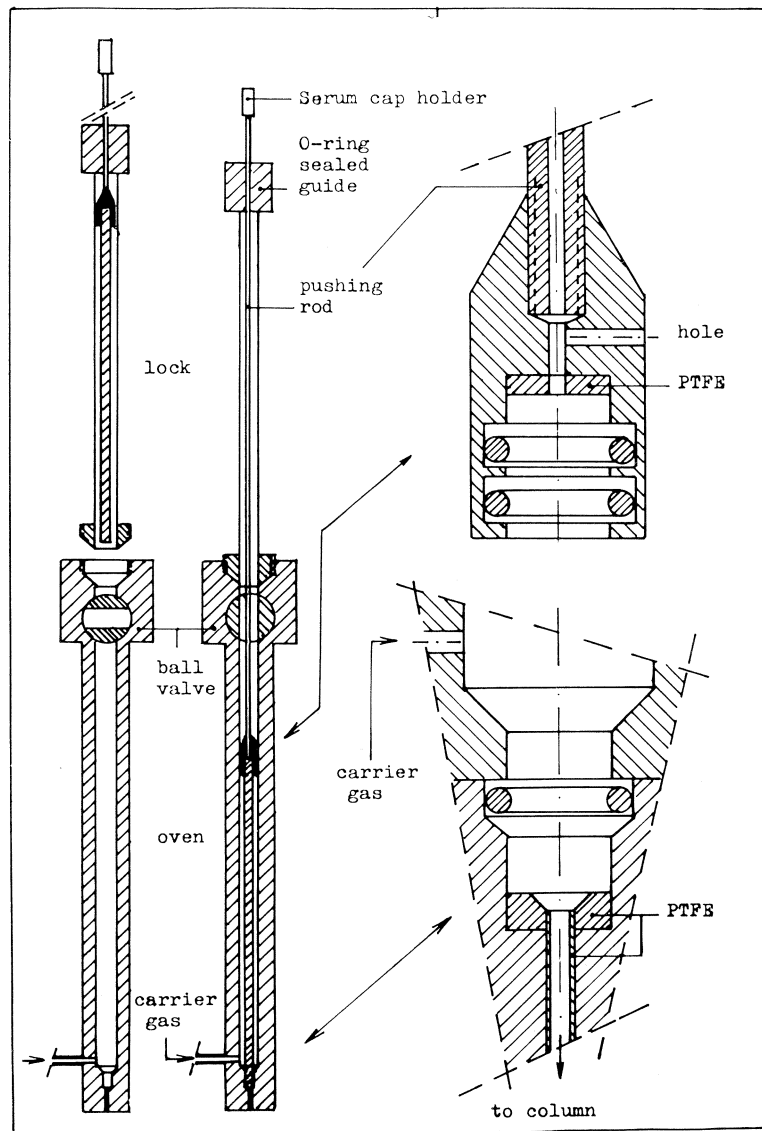


Fig. 4. — Injection device

tion can be expected and was indeed found in the first trials. To solve this problem a procedure was developed by which the band contraction is performed in a special injection column. The enrichment column is therefore connected to a second short column. This is packed with a stationary phase that — in contrary with the packing of the enrichment column — will lead to low retention volumes at a moderate temperature. The tandem column is placed in a special heating — and cooling device as depicted in figure 6 (p. 127).

When a slow stream of gas is turned on, the volatiles in the enrichment column will start to move as soon as their capacity ratio k is low enough to bring some vapour

in the gasphase. This movement grows faster as the temperature increases. On their way down the volatiles encounter — when they come in the upper part of the injection column — a temperature field with a negative gradient. As a result the moving rate, depending on the steepness of the gradient, will logarithmically slow down. The net effect is that the originally broadened component zones will be contracted to narrow ones. More or less separated, they travel slowly further into the cool part of the injection column.

Operational conditions can be so chosen that after turning-off the stream of gas all volatiles of interest are transferred from the enrichment to the injection column.

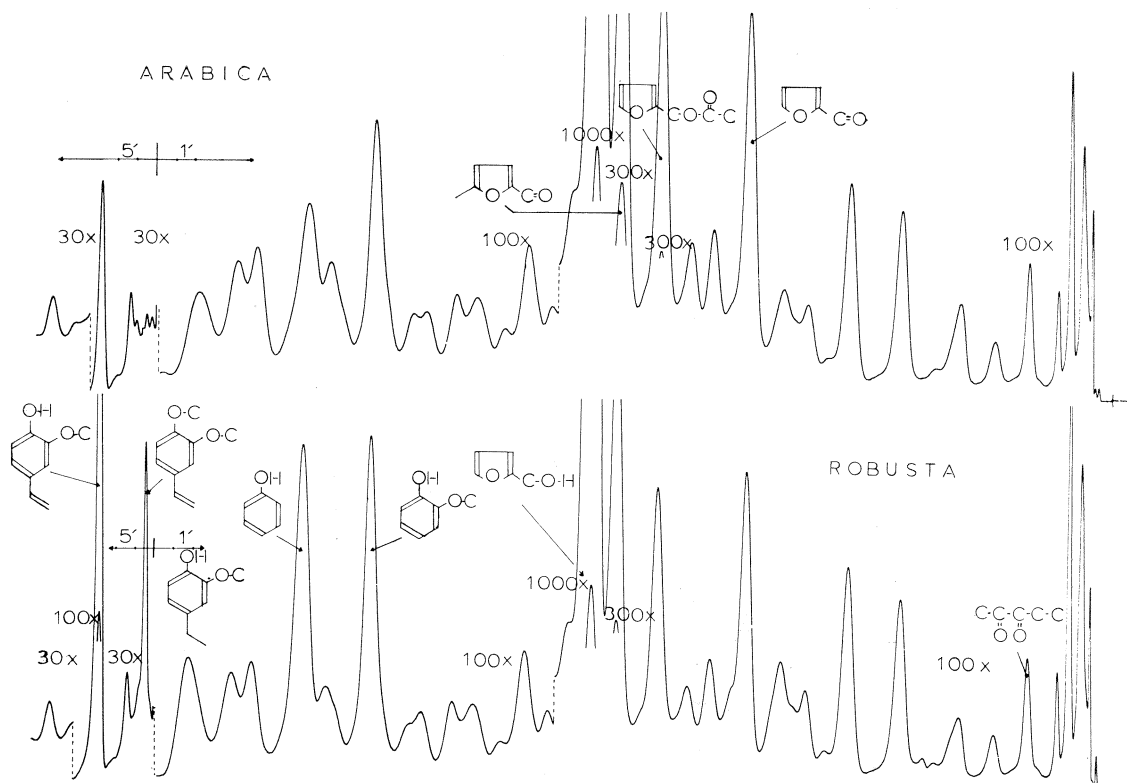


Fig. 5. — Gaschromatograms of enriched coffee headspace.

Column ; glass tube 2 m × 4 mm (i. d.), dual ; Detector : hydrogen flame ionization, dual ; Sensitivity : 4×10^{-12} A × attenuation factor f. s. d ; Stationary phase : 15 % Lac 1 R 296 on Gaschrom AW, 60-80 mesh ; Carrier gas : 30 ml/min. N₂ ; Program : 70°-150° C at 2°/min., isotherm. 150° (dotted lines are baseline adjustments).

Both ends of this column must be free of volatile matter for some centimeters of packing. When the injection column is placed in the injection oven as described before, but not pushed past the O-ring, it can now be pre-heated without danger of losses of the contents by diffusion.

This is done to such a temperature that, when the carrier gas flow is directed through the column, the components enter the capillary column in a sufficiently short time. The linear gas velocity depends on the split at the entrance of the capillary but will be rather high in practice.

Figure 7 (p. 128) depicts an injection-lock on a gas-chromatograph.

This perhaps rather laborious sampling and injection technique enhances the versatility of the gaschromatographic analysis. Column packings and operational conditions can be adapted to the sample composition and the purpose of the investigation. Backflush in injection and contact with metals are avoided. Damage by excessive heat can be minimized.

The results of the analysis of two different coffees on such a porous layer open tube column are shown in figure 8 (p. 128). For these experiments a Porapak P enri-

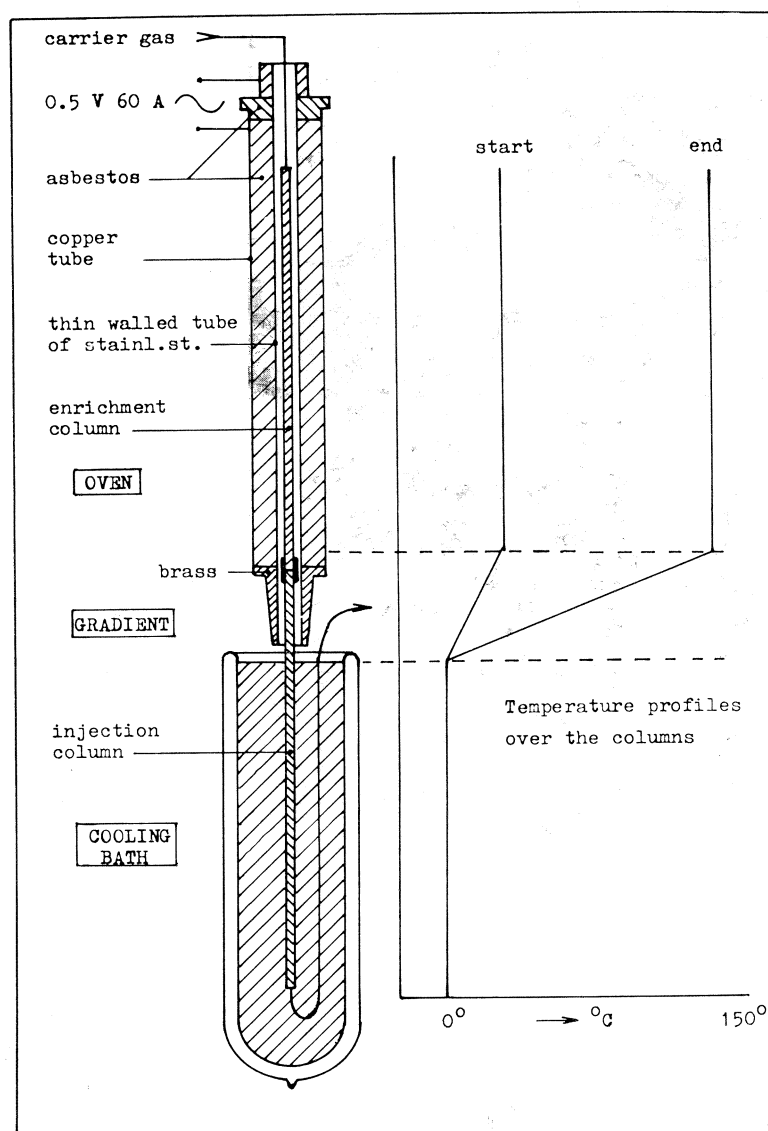


Fig. 6. — Preparation of sample for injection

chment column and an injection column with cyanoethylsilicon oil on silanized Chromosorb G were used.

With adequate attenuation and programming over 250 peaks can be made visible in these chromatograms.

As seen before the Robusta coffee gives higher peaks at the retention times of some phenolic compounds. The Arabica coffee shows some higher peaks in the beginning of the chromatogram.

As a conclusion we think that this method of headspace analysis can be an effective tool in investigating the aroma of coffee. Even if the chromatograms shown are not yet pure « fingerprints » a lot of information can be obtained from them.

The uncoupling of sampling, preparing for injection and gaschromatographic analysis enhances the versatility, so that optimal conditions can be chosen for each step in the procedure.

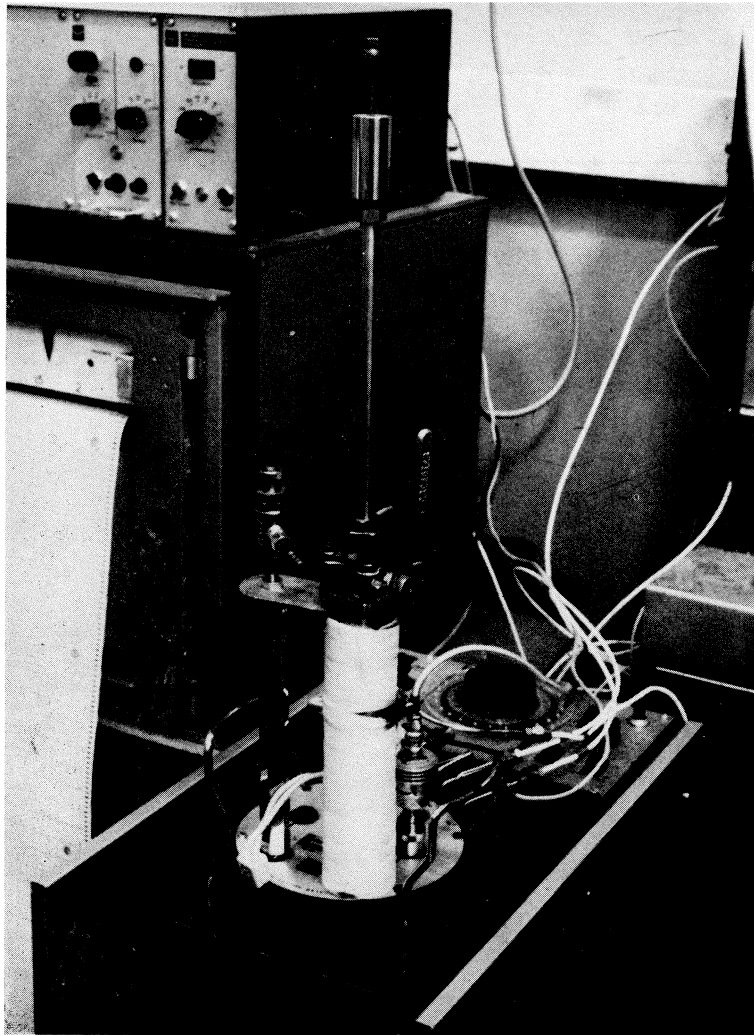
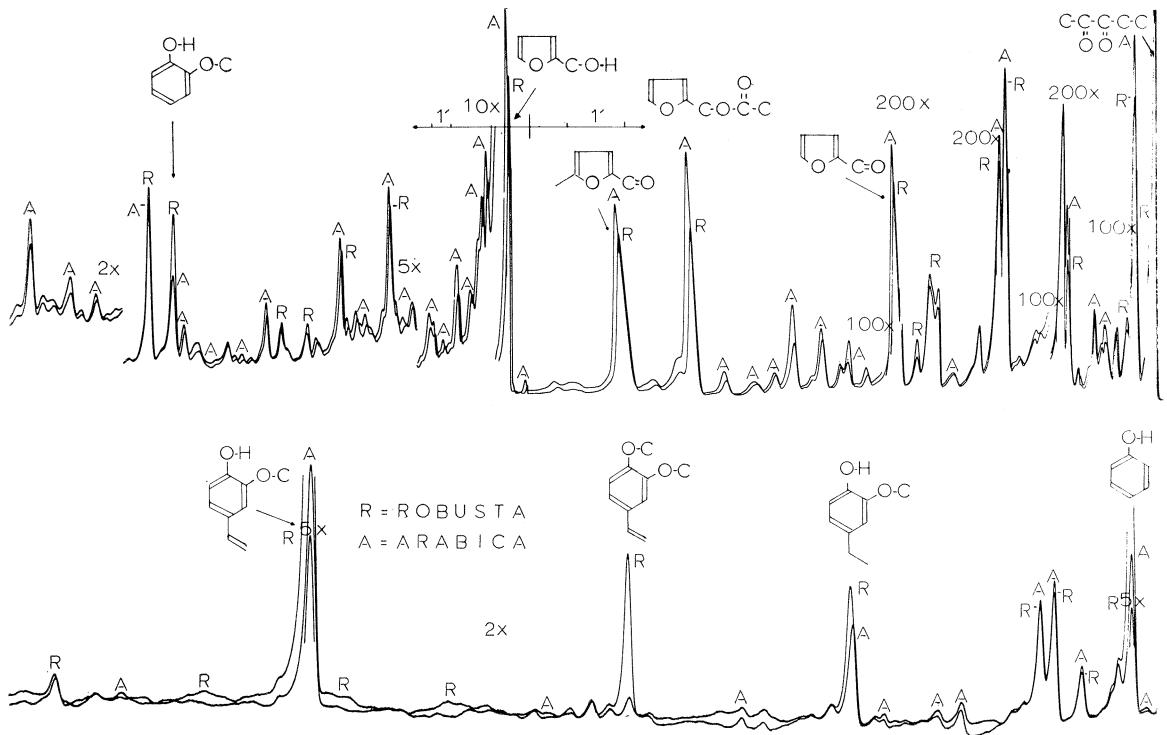


Fig. 7. — Injection lock and oven mounted on a gaschromatograph

Fig. 8. — High resolution gaschromatograms of enriched coffee headspace.

Column : glass tube 65 m × 0.25 mm (i. d.) ; detector : hydrogen flame ionization ; Sensitivity : 2.5×10^{-12} A × attenuation factor f, s. d. ; Stationary phase : Lac 1 R 296 on layer of carbon black ; Carrier gas : 0.5 ml/min- N_2 ; split 1 : 100 ; Program : 90°-130° C at 0.4°/min. (The recordings are started 7 minutes after injection).



LITERATURE CITED

- C. A. CRAMERS. — Thesis. Eindhoven 1967.
 K. GROB. — *Helv. Chim. Acta*, **48** (1965), 1362-70 ;
ibid., **51** (1968), 718-37.
 R. KAISER. — *Chromatographia*, **1** (1968), 199-207.
 J. NOVAK, V. VASAK, J. JANAK. — *Anal. Chem.*, **37**
 (1965), 660-6.

PYPKER (J.), BROUWER (H.). — **Analyse dans l'espace de tête des constituants du café les moins volatils.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 122-130, fig., réf.

Lorsque quelques millilitres de vapeur d'espace de tête de café sont injectés dans un chromatographe, quelques-uns seulement des constituants volatils sortant de la colonne polaire après l'eau peuvent être décelés.

Dans le but d'étendre l'analyse de l'espace de tête à un plus grand nombre de constituants, les auteurs ont mis au point un procédé qui permet de les récupérer, à partir d'un échantillon d'un volume cent fois supérieur, dans une courte colonne auxiliaire. Avec cette technique, une partie des constituants très volatils et de l'eau sont écartés.

Les auteurs décrivent les méthodes suivant lesquelles ces échantillons enrichis de façon spécifique peuvent être injectés dans quelques types de colonnes chromatographiques, sans diminuer l'effet du procédé de séparation.

Les chromatogrammes ainsi obtenus montrent des différences dans la composition des espaces de tête suivant le café étudié. On trouve par exemple une teneur en composés phénoliques considérablement plus élevée dans le café Robusta que dans l'Arabica.

PYPKER (J.), BROUWER (H.). — **Headspace analysis of less volatile constituents of coffee.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 122-130, fig., réf.

When some milliliters of headspace vapours of coffee are injected into a gaschromatograph only a few of those volatiles, which leave the polar columns after water, are detectable.

In order to extend the headspace analysis to more of these components, a procedure has been developed to collect them from a hundred fold higher sample volume in a short auxiliary column. In this process part of the high volatiles and water are discarded.

Methods are described by which these specifically enriched samples can be injected in some types of gaschromatographic columns without decreasing the effect of the separation process. Chromatograms so obtained show differences in headspace composition depending upon the coffee under investigation. As an example the considerably higher content of some phenolic compounds of Robusta coffee versus Arabica coffee is shown.

ACKNOWLEDGMENT

The authors gratefully acknowledge the assistance of J. Q. M. de Beer, J. ten Hoeve and T. J. de Jong in the development of the procedures and the construction of the devices described in this article.

PYPKER (J.), BROUWER (H.). — **Headspace-Analyse von schwerflüchtigen Komponenten des Kaffees.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 122-130, fig., réf.

Wenn einige Milliliter Dampf von Headspace des Kaffees in ein Chromatograph eingegeben werden sind nur einige der nach dem Wasser aus der Polarsäule austretenden flüchtigen Komponenten nachweisbar.

Um die Analyse des Headspaces auf eine grössere Anzahl von Komponenten auszudehnen haben die Autoren ein Verfahren fertiggestellt, das ermöglicht von einer Probe mit hundertmal grösserem Volumen ausgehend die Komponenten in einer kurzen Hilfs-säule rückzugewinnen. Mit dieser Technik wird ein Teil der leicht flüchtigen Komponenten und des Wassers ausgeschaltet.

Die Autoren beschreiben die Methoden denenzufolge diese auf spezifische Weise bereicherten Proben in einigen chromatographischen Mustersäulen eingegeben werden können ohne die Wirkung des Trennverfahrens zu schmälern.

Die auf diese Weise erzielten Chromatogramme weisen Unterschiede in der Zusammensetzung der Headspaces auf je nach dem geprüften Kaffee. So findet man z. B. beim Robusta Kaffee einen bedeutend höheren Gehalt an Phenolverbindungen als beim Arabica.

DISCUSSION

M. NAVELLIER : M. Pypker a tourné une nouvelle page dans notre connaissance de l'arôme du café. Nous avons connu une phase très constructive dans laquelle l'inventaire des constituants de l'arôme avait considérablement avancé, mais il restait une zone difficile à exploiter, celle des composés relativement peu volatils, qui n'avaient pu être identifiés ni dosés de manière satisfaisante.

M. Pypker apporte un complément important à cette connaissance et je souhaite que les travaux qui vont être poursuivis abordent des constituants encore moins volatils, qui ont une plus grande relation avec la sapidité.

La comparaison déjà établie entre les composants aromatiques des cafés Robusta et ceux des cafés Arabica, qui a été donnée ici, amorce une meilleure connaissance des précurseurs, et permettra de faire apparaître ces arômes à la torréfaction.

M. RUSSWURM : I want first to congratulate Dr Pypker for his excellent solution of the problem. The head-space technique has been followed with great interest for many years, because in the head-space you have the real composition of the aroma and the quantitative composition, but until now the head-space technique has not given enough data for a correlation between the analysis and the organoleptic value.

Enrichment with a pre-column has been presented here ; it is a very interesting solution. Last Friday at a meeting of the gaschromatographic discussion group in Copenhagen, a pre-column enrichment was also presented by Prof. von Sydow, and I myself presented at the same meeting a pre-column system which has been developed in our Institute.

I would like now to ask Dr Pypker if you get a backflush when heating the pre-column to liberate the volatiles. I would also like to know for how long the column is heated and the range of temperature.

M. PYPKER : Back-flush is not possible. I described two injection procedures :

In the first one we bring a still hot (about 70° C) pre-column in a flash in connection with the main column. At the utmost this will take a couple of seconds in which time the vapours — absorbed in the pre-column — will not diffuse out of the ends to such an extent that it can be observed on the trace detector.

In the other injection technique, where the sample is first transferred from an enrichment column to the injection column, I emphasized the fact that it is essential to keep the ends of the last column free of volatile matter.

Escape of volatiles out of the injection column can only be caused by expanding carrier gas — due to the rise of temperature — or by molecular diffusion. The transport of components by such processes through a packed column is so slow that heating is allowed as long as the capacity ratio « k » is not getting too low.

With a rise from room temperature to 150° C it takes for instance about 5 minutes before a small hump before and after a peak is observed as a sign of escape of sample out of the injection column. Within this limit heating is allowed. In our experiments we heat to such a degree that the peaks of interest show maximal resolution. As we are less interested in the peaks of the high volatile components, these may get a little diffused.

SOME SIMPLE ANALYTICAL METHODS IN COFFEE PROCESSING

E. J. C. PAARDEKOOPER, J. DRIESEN, J. CORNELISSEN
P. de Gruyter & Zn, Den Bosch

The information needed for quality control purpose during processing may be quite different and probably less extensive than that needed for study purpose or compound analysis. The important considerations that must be given to the development of a quality control procedure are the rapidity and the simplicity with which

the analysis must be done and the kind and extent of the information that must be derived from it. In so far for coffee processing we have met the following problems :
— moisture determination in dried coffee extract.
— color measurement in relation to the control of the roasting process.

MOISTURE DETERMINATION OF INSTANT COFFEE POWDER BY NEAR - INFRARED REFLECTION

A rapid determination of the moisture content in instant coffee is required for the control of the spray-drying process. The upper limits, about 4 % moisture, are determined by the keeping qualities or are specified by legal regulations.

The usual methods for the determination of the moisture are : oven drying, azeotropic distillation (1) or Karl Fischer titration. These methods are time consuming although reproducibility and accuracy are quite good. σ , the standard deviation, is about 0.05 % in the usual range of 1-6 % moisture.

Other methods such as dielectric and resistance moisture meters or Nuclear Spin resonance meters either require careful techniques or are much too expensive with respect to the quality of the information obtained.

In transparent mixtures, vapours or solutions, the moisture content can be determined by measuring the light absorption in the near-infrared region where water exhibits strong absorption bands at 1,45 and 1,93 microns (2,3).

Also the moisture content of nontransparent solids could be determined when the solids are transformed into a transparent state, for instance by the KBr disk technique.

As an example see transmission curves fig. 1 for transparent samples of instant coffee, which were obtained by pressing 3 % dispersions of instant coffee powder in powdered potassiumbromide. It is evident

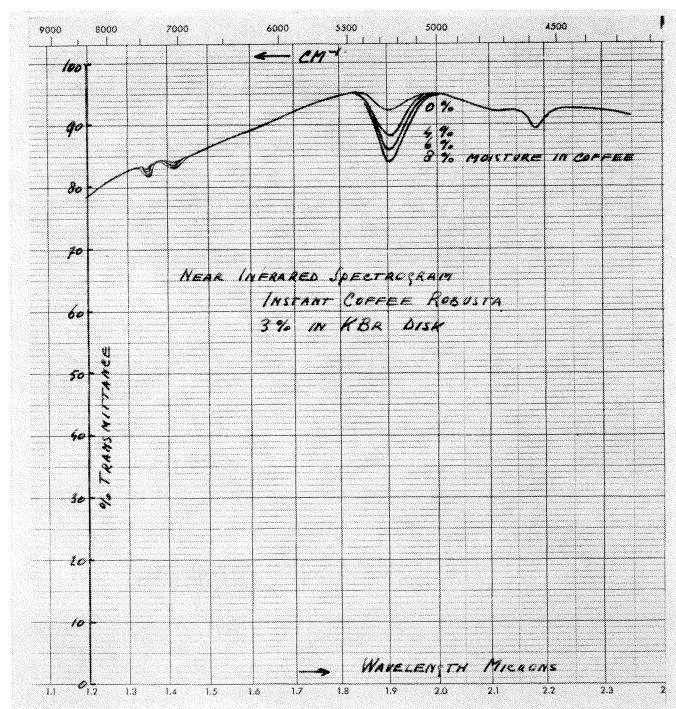


Fig. 1

that the absorptions at 1.45 and 1.93 microns depend on the moisture content of the sample and that the absorption at 1.93 micron is definitely the stronger one.

This method of measuring the infrared absorption of solids is too complicated to be useful for routine purposes.

In the last decade a much faster method was developed by HOFFMANN and co-workers (3), who determined moisture in solids by measuring the infra-red reflection of the solid.

As absorption and reflection are closely interdependent, the reflections at 1.45 and 1.93 microns are lowered when compared to a neutral reference wavelength, such as 1.7 microns where there is practically no light absorbed by water.

The comparison between measuring and reference wavelength is performed simultaneously to eliminate any difference caused by surface structure, bulk density, instrument distance and instrument sensitivity. Intensity ratios of the measuring and the reference wavelength are electronically established, amplified and indicated or recorded. For each solid the correlation between reflection ratio and moisture content must be determined empirically.

Recently the opportunity arose to make some trials with an industrial infra-red meter, the Pier Electronic Moisture meter, working according to the principles outlined above. This communication gives a rough picture of the first results.

The moisture meter

The Pier electronic moisture meter consists of a measuring head and an amplifying indicating instrument (fig. 2).

In the measuring head the optical components of the system are arranged. Radiation produced by an ordinary 15 watt lamp is filtered by interference filters to obtain suitable wavelengths in the near infra-red region.

These interference filters, one for the specific measu-

rement wavelength 1.9 micron, the other for the reference wavelength 1.7 micron are placed in a filter disk which is rotated by a synchronous motor so that each filter in turn enters the beam with constant frequencies (fig. 3, reprint from Lit. 3).

The beam is projected at the sample where part of the radiation is absorbed; firstly because of the own « colour » of the sample which may be considered as a material constant, and secondly, at the measuring wavelength only, because of the variable moisture content of the sample.

Non-absorbed light is reflected by the sample to the measuring head where it is collected by a concave mirror and centered on a lead sulphide photoresistor. Before entering the photoresistor, visible overtones in the beam are intercepted by a selective filter. Extra filters can be inserted to correct for the own colour absorption already mentioned.

The signal produced by the photoresistor consists of two Fourier series of rectangular pulses. After amplification these series are separated by a discriminator operating at the same frequency as the rotating filter disk.

The separated series of pulses are converted to two direct currents and fed to a ratio instrument the indication of which, after calibration, is a direct measure of the water content of the sample.

Experiments

For the moisture determination in spray dried coffee the powder was placed in a Petri dish of 10 cm diameter. The depth of the layer was about 1 cm which is sufficient to allow the infra-red beam to hit only the sample and not the support. The Petri dish was filled to the rim and the surface levelled off by removing the surplus powder with a straight ruler. Shielding from the strong daylight is advisable.



Fig. 2. — Pier electronic moisture meter

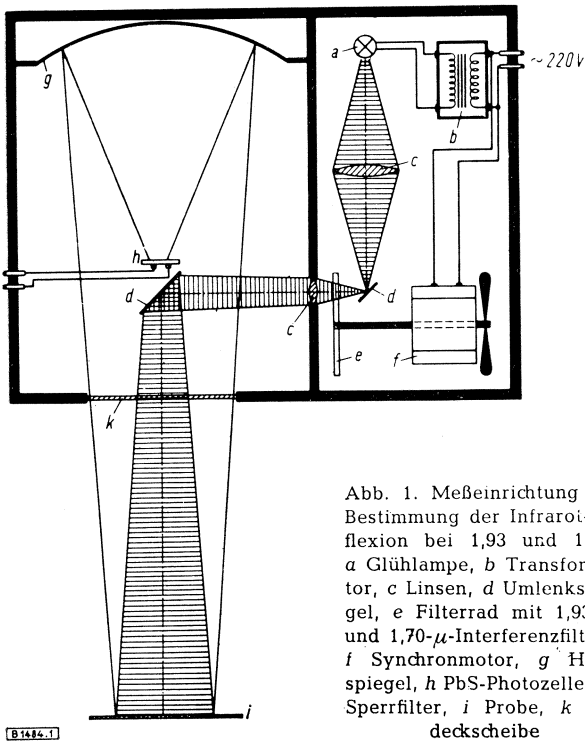


Abb. 1. Meßeinrichtung zur Bestimmung der Infrarot-Reflexion bei $1,93$ und $1,7 \mu$
 a Glühlampe, b Transformator, c Linsen, d Umlenkspiegel, e Filterrad mit $1,93\text{-}\mu$ und $1,70\text{-}\mu$ -Interferenzfiltern, f Synchronmotor, g Hohlspiegel, h PbS-Photozelle mit Sperrfilter, i Probe, k Abdeckscheibe

Fig. 3. — In HOFFMANN (3)

To correct for the own « colour » of the sample the bluish filters B. G. 38 or F. G. 3 give the best results.

Using the measuring wavelength of 1.93 micron the reflections of various instant coffees of various moisture contents, including absolutely dry powders, were determined and expressed as Pier Units. These readings were correlated to the moisture contents which were determined by drying 2 gr portions during 5 hours at 105° C.

Instant coffees of different quality were analysed such as made from Robusta — Arabica blends, pure Robusta and Robusta dark roasts (fig. 4). In the range of $0\text{-}6\%$ moisture a linear relation exists between instrument indication and moisture content. For the combined data the standard deviation of the measurement amounts to about 0.25% moisture.

When the measurements are restricted to one kind of instant coffee such as Robusta, fig. 5, or a decaffeinated Arabica — Robusta blend, fig. 6, 7 (p. 134), the precision is definitely greater and the standard deviation is reduced to 0.12% .

Experiments showed a definite influence of particle size, the smaller particles having the greater reflections. When the calibration curve is based on powders having a larger average particle size, a too low moisture content is indicated for a powder of smaller particle size.

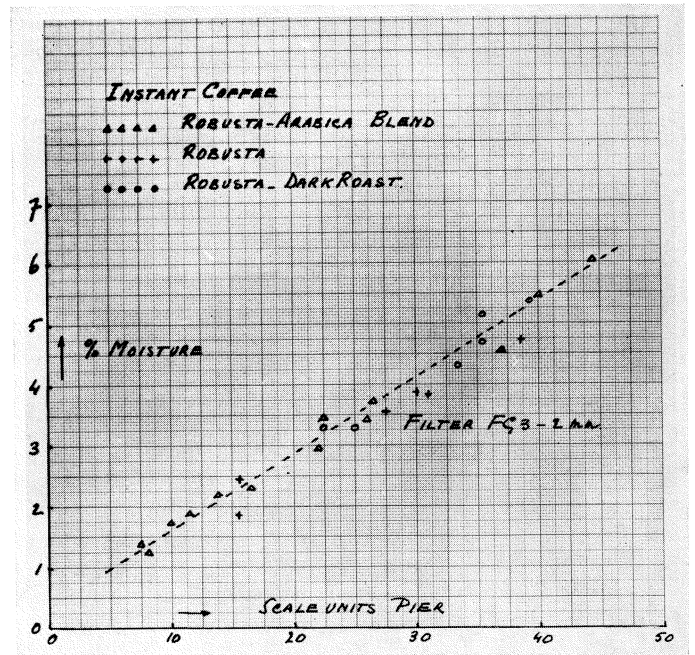


Fig. 4

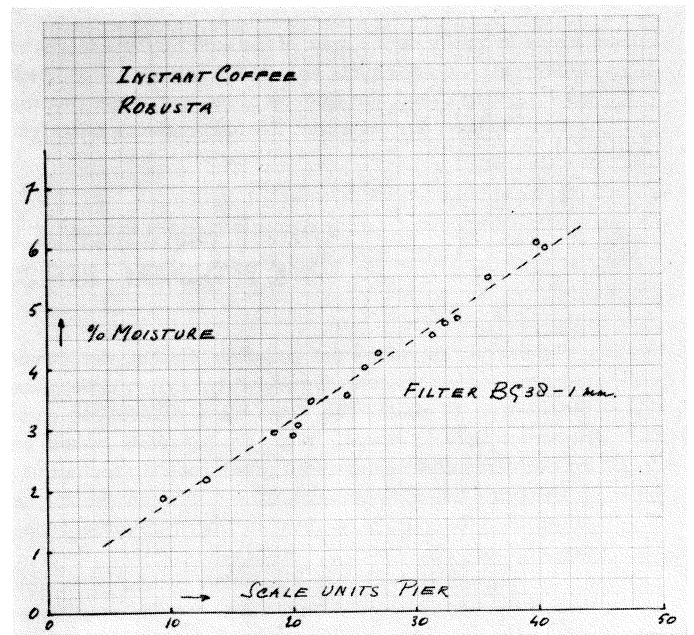


Fig. 5

However for production supervision the influence of particle size is not considered as objectionable. When production is well organised, the resulting powders always have the same particle size distribution.

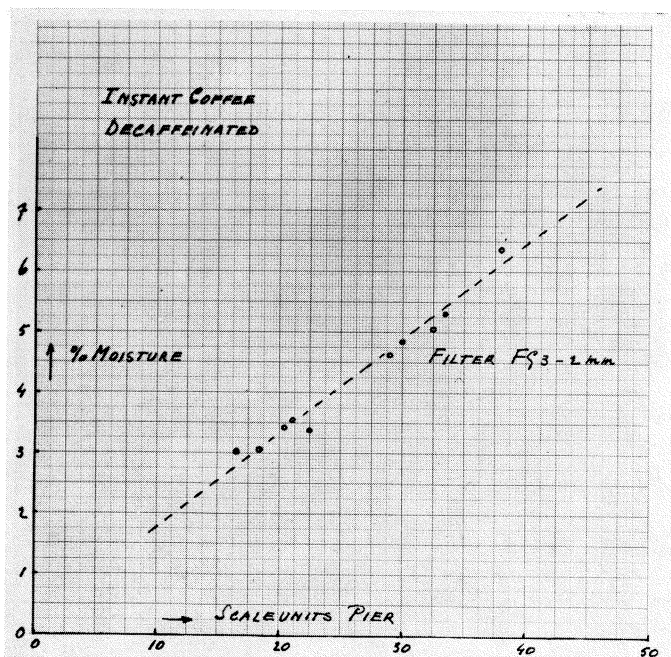


Fig. 6

As the instrument indication, i. e. the reflection, depends on the own colour of the sample their might be a dependence on the variable of the instant coffee, such as the coffee blend, the degree of roast or the extraction ratio. We are not sure that this dependance does not

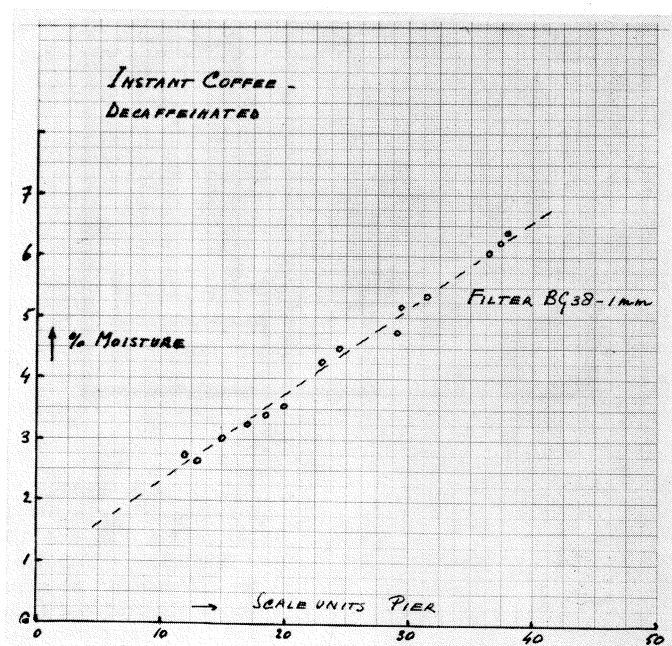


Fig. 7

exist but in any case the effect is small (for instant coffee) compared to the influence of particle size. The combined effects are automatically taken care of when a standard reflection — moisture curve is established for each brand.

COLOUR MEASUREMENT OF GROUND ROASTED COFFEE WITH THE EEL REFLECTANCE SPECTROPHOTOMETER

As flavour development parallels colour, the development during roasting is judged by eye to determine the degree of roast. The same taste differences exist between light, medium, high or espresso roasts as for a given coffee blend and a given roasting technique.

The objective of quality control is to prevent the colour differences becoming so diverse that taste differences are noticed.

For a direct control of the roasting process i. e. the time-temperature relation and more precisely the end-point of the roast, one has to use the subjective colour evaluation by eye. Considering this judging by eye as the operational method, there is still the problem of how the finished roast resembles the standard roast and more fundamentally how this standard roast is defined. In order to eliminate the rather inaccurate human element in colour measuring an instrumental method must be used. Therefore the EEL reflectance colorimeter is chosen, because this instrument is

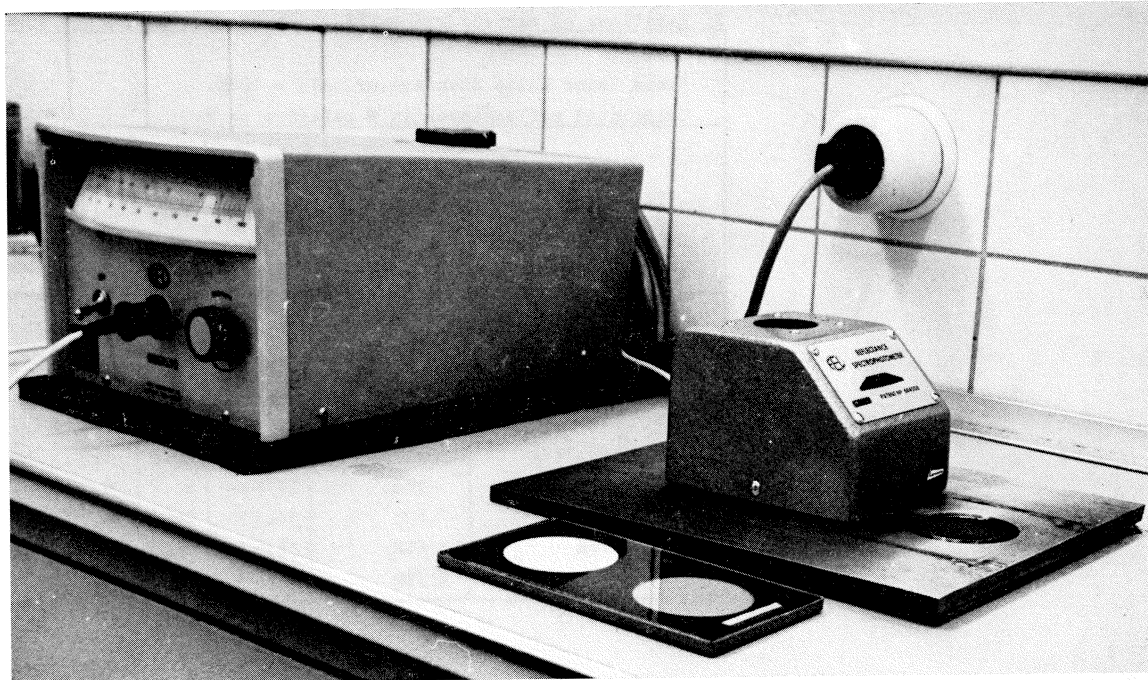
simple to use, not expensive and of sufficient sensitivity for the purpose in mind.

The instrument consists of two units : a reflectance spectrophotometer head and an indicating galvanometer (fig. 8).

The general lay-out of the reflectance head is shown in fig. 9. Light from lamp (1) is projected by lens (2) through colour filter (5) on the sample at an angle of approximately 45°. Light reflected by the sample is collected by the photocell (4) which is placed above the sample. The intensity of the reflected light is indicated by the galvanometer which has a linear scale from 0 to 100 %.

The colour of the light falling on the sample can be altered by colour filters with various spectral transmittances. By using the prescribed filters, tricolour reflectance, tricolour absorption and C. I. E. values can be determined.

Fig. 8



Instrument calibration

For calibration the reflectance-values of various white and grey standards were determined using the 9 different EEL-Ilford colour-filters and Zeiss White nr. 415 as the «master» standard (table I, p. 136). It is demonstrated that Sikkens grey 6063 behaves as a «perfect» mixture of black and white, forming a neutral grey.

EEL grey is not neutral as there is marked higher reflection in the deep red region. Nevertheless the EEL grey is preferred as a working standard because it has shown better reproductive measurements than the Sikkens grey.

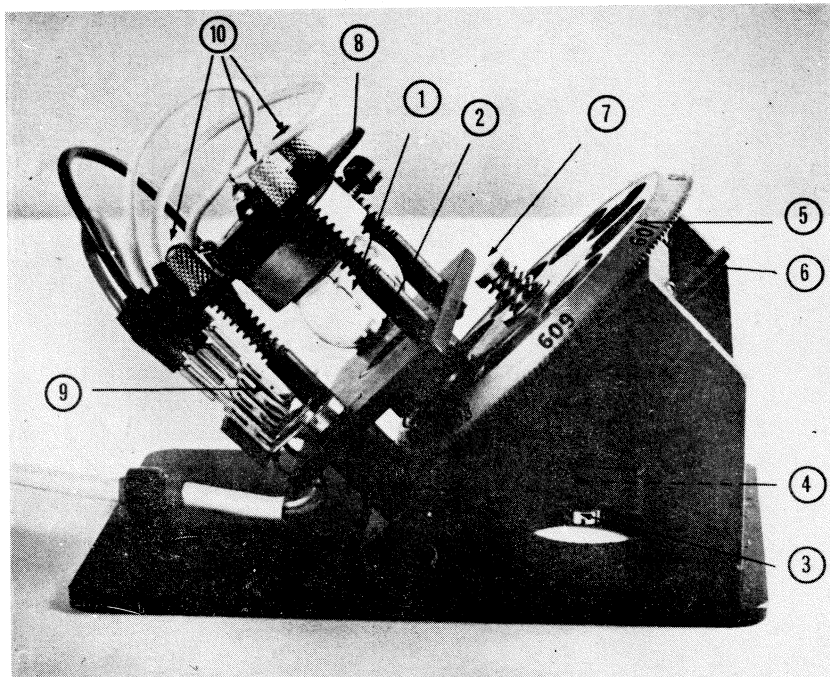
Sample preparation and reflectance measurements

100 grs of roasted coffee are finely ground in an ordinary disk grinder such as a «Berkel» coffee mill, type 303. In the normal procedure only the ground fraction passing through a screen of 0.25 mm is used. Of this fine fraction 4.0 to 4.4 grs, depending on the roast, are placed in a «caking hole» in a stainless steel plate (fig. 10, p. 136).

The coffee is pressed smoothly into the hole by a rubber stopper and then flattened by levelling with a glass rod.

The light intensity is first standardized to 100 %.

Fig. 9



INDEX

- | | |
|-----------------|--------------------------|
| 1. Lamp | 6. Range lever |
| 2. Lens | 7. Spring-loaded spindle |
| 3. Aperture | 8. Set screw |
| 4. Photocell | 9. Tagboard |
| 5. Filter wheel | 10. Knurled nuts |

I. Relations of various standards measured with Eel Reflectance meter.

Basis Zeiss White Standard nr. 415 = 100%.
 Calculated reflectances in % relative to MgO

Eel Ilford nr.	Colour filter		Sikkens grey 6063	Eel grey	Eel white	Zeiss white nr. 415
	colour	transmission maximum nm				
601	violet	428	32,9	22,8	72,8	78,3
602	blue	470	34,0	25,3	75,9	79,0
603	blue green	490	34,6	26,5	76,3	79,4
604	green	520	35,0	25,6	76,7	79,7
605	yellowgreen	550	35,1	25,2	77,3	79,8
606	yellow	583	34,8	25,2	76,5	79,0
607	orange	605	34,4	26,4	75,8	78,2
608	red	≥ 660	34,6	33,0	74,1	77,1
609	deep red	≥ 700	34,6	38,3	73,7	76,9

Effect of colour filter

With grey standards of 35 % reflectance value or lower, the 100 % reading cannot always be reached — especially in respect of the green or blue filter.

The colour filters have a considerable influence on the indicated measurements of coffee. The absolute reflectance values are very small in the violet region, about 6 % relative to MgO. For the red filters, these values are much higher (see table II).

Measurements with the deep red filter nr. 609, in combination with EEL grey standard are preferable.

The relative reflectance values amount to 60-80 % scale reading for the coffee samples. The various roasting shades : light, normal and dark roast, can be distinguished quite easily (see table II).

Influence of sample preparation - grinding and sieving

As the measurements are affected by variations in the sample preparation, for instance the influence of the particle size and the sieving method should then be studied.

The finer particles have greater reflectance values which is an advantage when measuring small colour differences (see table III). The influence of the chaff is suppressed as it is intensively mixed with the coffee particles during the sieving.

It is necessary to standardize the sieving method.

Two methods of sieving were compared. Machine sieving during 15 minutes with a normal rotary vibrating screen and hand sieving with brushing. The fraction obtained by hand sieving shows slightly higher reflectance values than machine sieving (see table IV).

EEL REFLECTANCE METER WITH COFFEE CAKING PLATE

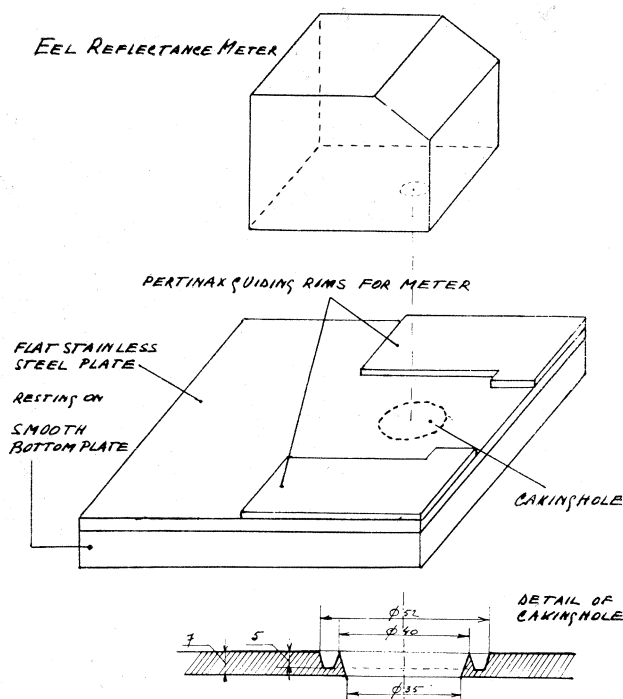


Fig. 10. — EEL reflectance meter with coffee caking plate

II. Reflectance of ground coffee varying with incident light colour.

Colour filter		% reflectance					
Eel	transmission	relative to Eelgrey =100			relative to MgO=100		
Ilford	maximum	light	normal	dark	light	normal	dark
nr.	nm						
601	428	29,3	26,8	26,2	6,7	6,1	6,0
602	470	31,1	28,2	27,8	7,9	7,1	7,0
603	490	28,3	26,6	26,5	7,5	7,1	7,0
604	520	34,6	32,0	31,1	8,9	8,2	7,9
605	550	43,0	40,2	38,6	10,8	10,1	9,7
606	583	53,9	51,2	48,0	13,1	12,9	12,1
607	605	69,1	66,7	62,1	18,2	17,6	16,4
608	>660	80,1	76,8	72,1	26,4	25,4	23,8
609	>700	81,0	77,9	73,3	31,0	29,8	28,1

III. Reflectance of ground coffee varying with particle-size.

Eelfilter 609, basis Eelgrey = 100%

roasting degree	particle-size mm		
	< 0,25	0,25 - 0,60	> 0,60
very light	83,0	58,2	53,2
light	76,5	52,8	50,6
normal	74,2	49,4	48,7
darkish	66,3	46,0	45,4
dark	60,9	43,4	43,3

IV. Influence of sieving methode on reflectance.

Eelfilter 609, sievefraction <0,25mm , Eelgrey = 100%.

roasting degree	machine sieved 15 minutes	handsieved and brushed
light	77,4	79,8
normal	74,0	75,8
dark	71,9	74,0

Reproducibility and standardization

The reproductiveness of the instrument is very good. For a series of five measurements of the same cake of roasted coffee the standard deviation amounts to 0.1-0.2% reflectance (see table V).

Where different cakes from the same roast are examined the accuracy is reduced but is still very good (see table V-B).

For obtaining accurate results, three different cake measurements from the same roast are taken with the average measurement having a standard deviation of about 0.25 % reflectance. This accuracy is sufficient for quality control.

For standardization in the roasting department, we prescribe a permissible range of 4 %, i. e. 2 % on either side of the standard value roast. A coffee roast differing more than 2.5 % from the standard reflectance value start to exhibit taste differences from the standard roast which are considered objectionable. This being a definite cause for alarming the roasting department.

LITERATURE

1. BRANDENBERGER H. and BADER H. — *Analytical Chemistry*, **33**, n° 13, 1947-1949 (1961).
2. LAUER J. L. and ROSENBAUM E. J. — *Appl. Spectroscopy*, **6**, n° 5, 29-40, 46 (1952).
3. HOFFMANN K. — *Chemie-Ingenieur-Technik*, **35**, (1963), 55-62.
4. HOFFMANN K., SCHLÄMP L. and GLÖSER F. — *Meiliand Textilberichte*, **39**, n° 10 (1958), 1157-1160.

PAARDEKOOPER (E. J. C.), DRIESEN (J.), CORNELISSEN (J.). — **Quelques méthodes analytiques simples utilisées au cours de la technologie du café.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 131-139, fig., tabl., réf.

La détermination rapide du taux d'humidité du café soluble est effectuée par la mesure de la réflectance de l'échantillon dans le proche infrarouge, au moyen d'un hygromètre électronique Pier.

La seconde étude a pour but l'application pratique du spectrorélectromètre EEL à la mesure de la couleur du café torréfié.

La couleur du café torréfié et moulu peut être exprimée numériquement en valeurs de réflexion.

PAARDEKOOPER (E. J. C.), DRIESEN (J.), CORNELISSEN (J.). — **Some simple analytical methods in coffee processing.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 131-139, fig., tabl., réf.

The fast moisture determination in soluble coffee is realized by measuring the reflectance of the sample in the near infrared region with the Pier electronic moisture meter.

The aim of the second investigation is the practical application of the EEL reflectance spectrophotometer for the colour measurement of roasted coffee.

The colour of ground roasted coffee can be expressed numerically in colour-reflection numbers.

PAARDEKOOPER (E. J. C.), DRIESEN (J.), CORNELISSEN (J.). — **Einige einfachen in der Technologie des Kaffees verwendeten analytischen Methoden.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 131-139, fig., tabl., réf.

Die schnelle Bestimmung des Feuchtigkeitsgrads des löslichen Kaffees wird durch die Messung des Reflexionsvermögens im nahen Infra-Rot mittels eines elektronischen Feuchtigkeitsmessers Pier durchgeführt.

Die zweite Untersuchung bezweckt die praktische Anwendung des Spektralreflektometers EEL zur Messung der Farbe des Röstkaffees.

Die Farbe des gerösteten und gemahlten Kaffees kann zahlenmässig in Reflexionswerte ausgedrückt werden.

V. Reproducibility of measurements.

Eelfilter 609, basis Eelgrey = 100%.

Stability of instrument: 5 measurements of 1 cake, standardisation before each measurement.

A

roasting degree	% reflectance					R ₅
light	77,4	77,5	77,5	77,4	77,6	0,2
normal	74,0	74,0	73,9	74,0	73,9	0,1
dark	69,8	69,9	69,8	69,9	69,9	0,1

Stability of caking method: 100g coffee of normal roast, ground and sieved <0,25 mm, 4 different cakes each measured 5 times.

B

Cake nr.	% reflectance					mean
1	74,0	73,9	74,0	74,0	74,0	74,0
2	74,0	74,0	73,9	74,0	73,9	74,0
3	73,4	73,4	73,4	73,2	73,2	73,3
4	73,2	73,2	73,2	73,2	73,2	73,2

N. B. : in the tables I-V, « Eel » should be read as « EEL ».

DISCUSSION

M. NAVELLIER : La surface de la poudre de café, soumise à la mesure de réflectance pour en connaître la teneur en eau, était-elle nue ou protégée ? Si elle était nue, la teneur en eau ne risquait-elle pas de se modifier au cours de la mesure par réaction avec l'humidité atmosphérique ?

M. PAARDEKOOPER : We only use a Petri dish in which we put 10 g of instant coffee powder. Then we smooth the level with a glass stick or a glass plate and we put directly the sample under the measure head. So the coffee sample is « naked », the method takes a few second so that the moisture content of the sample is not influenced by the surrounding air.

REPORT OF THE WORKING PARTY ON COFFEE ODOUR RESEARCH METHODS

C. WEURMAN and S. VAN STRATEN

Central Institute for Nutrition
and Food Research, TNO, Zeist

During the discussions on the organization of the Symposium as a whole, it was decided to arrange for this report to be read here in Zeist at the Central Institute for Nutrition and Food Research, TNO, outside as it were, of the regular series of lectures, since too small a number of congressmen were thought to be interested in the specialized committee reports.

Quite correctly so, I believe.

However, I see now, that still a considerable number of people are here today, who are not participating in

our joined experiments. Presumably they have come for other reasons and I will therefore keep this report as short as possible.

It is the third time now — since Paris 1963 — that I am reporting on the activities of the « Working Party on Coffee Odour Research Methods », which was established to study methods of coffee odour analysis that should give comparable results in the hands of different workers. A more exact formulation of the activities of the Party can be found in the reports of the earlier Symposia.

PRESENT STUDIES

The experiments suggested to the members of the Working Party for execution over the period starting at the last Symposium at Trieste in 1967, had two objectives :

1. To look for a « better » stationary phase than Lac-IR296, used so far in our experiments.

2. To reach a decision on whether or not the discrepancies found in the results of the collaborators during earlier analysis, could be attributed to some kind of « backflush » of the injected vapour sample into the up-stream carrier gassline.

The first set of experiments are the least intricate to report on.

Naturally, to call a column « better » than another is somewhat arbitrary. It was decided in advance, however, to consider any column « better » than Lac-IR296, which would give a greater number of peaks when

equal volumes of the vapour over the same batch of ground roasted coffee were injected on the Lac, and the new type of column respectively. The apparatus, injection port, carrier gas leads, detector sensitivity, etc. all should be the same in both tests, although flow and oven temperatures would be adjusted for optimum performance in both instances.

The results were to be sent to us in the form of figures and these are now presented in table I.

For easier reading of the table, information on the type of column is kept to a minimum.

Since, with each experiment « the other phase » has been compared with a Lac column on « that » specific instrument, a range of figures for Lac appears in the table.

Although theoretical plate numbers for the 4 m columns that were used have little meaning in these experiments — for, by necessity, they must have been calculated for different unknown peaks — they still have been presented. Those of you who incidentally have expe-

TABLE I

Comparison of the efficiency of some GLC columns for the analysis of coffee vapours

Columns	Plate number 4 m column	Number of peaks	Distribution of peaks on chromatograms
Lac (various columns) ..	3 500-4 800 (53-56 min.)	40-42	
Triton	3 160 (46 min.)	37	better than Lac
Sebacate ...	4 550 (49 min.)	36	about same as Lac
Ucon	3 900 (47 min.)	41	better than Lac
Silicone	4 140 (50 min.)	32	worse than Lac
Carbowax ..	3 410 (50 min.)	44	about same as Lac

rience with some of these columns may be able to understand from these plate numbers, whether the columns were « good », « acceptable » or « poor ».

As to the number of peaks emerging from the column after the application of the samples of coffee vapour our conclusion is easy to draw.

Conclusions on first experiment

Our choice for Lac has not been a bad one. Ucon seems to be equal to Lac for coffee and has the advantage over it for showing a « nicer » distribution of the peaks over the chromatogram.

Carbowax might be somewhat « better » than Lac because of the greater number of peaks that are given. However, before deciding on changing over from Lac to Carbowax or Ucon, other aspects have to be taken into account. We, at Zeist, have no experience on whether these columns stand up as good as Lac does — or better — to factors such as the passing of water or acids through them ; their use at varying temperatures ; deterioration by traces of O₂ in the carrier gas, etc. Are batches of these phases from the supply houses more variable or less so than Lac ?

If any of you has any comparative experience in these matters, please let us know.

It is a pity that no other apolar phases than silicone oil have been checked.

The second set of experiments are less easy to report on.

It is remembered that with earlier experiments on the direct GLC-analysis of coffee vapour somewhat disappointing variations in K. I's of peaks and peak height ratios were encountered — even though it was found that practically all peaks in the chromatograms of all participants could be traced in the chromatograms of the others.

In the present set of experiments it was to be checked,

whether « backflush » into the up-stream flow-leads — and thus a retarded entrance into the column by part of the sample and possibly differential absorption — could be the cause.

The experiment suggested was the following : the apparatus is altered by inserting a two-way valve in the carrier gas lead, up stream off, but as near as possible to the injection point.

Subsequent injections of vapour samples with an open valve (« normal » injection) and a closed valve (« interrupted flow » injection) respectively, should be executed and the resulting chromatograms studied.

The results again were to be sent to us in the form of figures (particularly those of peak heights, plate numbers and separation).

These figures are given in table II (p. 142).

Although most of the experiments consisted only of one « normal » against one « interrupted flow » injection i. s. o. series of runs in a row as we had hoped for, the results are reasonably clear when some additional information on a few of the experiments is given.

Experiment C :

The up-stream valve in this instance was located at about 60 cm away from the injection port. There was sufficient « room », therefore, for « backflush » and we cannot be surprised that no difference between the two injections is observed.

Experiment B1 and B2 :

The experiments are interesting for showing — in the actual chromatograms — that, when 5 ml samples were applied in the « normal » way, reasonable chromatograms were obtained ; 12 ml samples on the other hand were too large and bad tailing and broad peak tops resulted.

However, under « interrupted flow » conditions, even 12 ml applications gave quite acceptable chromatograms.

Experiment K and L :

Both these experiments were executed on wide bore (0.75 mm inner Ø) wall coated columns (Carbowax and Tricyanoethoxypropane respectively). No improvement by interrupting the flow was observed in these instances. Additional information showed that injection ports in these experiments were of a design differing from the injection ports used in the other experiments ; construction prevented « backflush » even without interrupting the flow by closing the carrier gas line.

Of only two of the experiments (B1 and J) something can be learned with regard to the possible influence of the type of injection on peak height ratios — discrepancies of which formed one of our main problems.

It was tried to show the influence — if existing — by

TABLE II

Comparison of « normal » and « interrupted flow » injections

Experiment Apparatus	Type of column	Separat.		Numb. theor. plates		Collaborator
		normal	interr.	normal	interr.	
A ; I	Lac. 1	2.92 2.82	3.45 2.88	2 380 2 508	2 560 2 445	1
B1 ; III (12 ml vap. sample)	Lac. 2	2.46 2.32 2.55 2.25 2.35	3.20 3.28 3.26 3.26 3.29	3 870 3 550 3 730 3 570 3 750	5 070 4 975 5 150 5 240 5 110	2
B2 ; II2 (5 ml vap. sample)	Lac. 2	3.06 2.69	3.47 3.40	5 180 4 100	5 180 5 165	2
C ; III	Lac. 3	1.43	1.49 1.45	no difference		3
D ; IV	Lac. 4	1.87	2.24	2 940	4 100	4
E ; IV	Triton	1.43	1.54	3 160	3 830	
F ; IV	Sebacate	1.77	2.0	4 550	5 900	
G ; IV	Ucon	1.68	1.96	3 900	5 120	
H ; IV	Silicon	1.25	1.50	3 740	5 010	
I ; IV	Carbowax	1.94	2.28	2 950	4 370	
J ; IV	Lac. 5	1.72 1.69 1.69 1.74	1.88 1.85 1.80	4 150 4 030 4 140 4 140	4 750 4 640 4 450	4
K ; V	wide bore capill. Carbowax	1.00	1.08	35 040	39 520	5
L ; VI	wide bore capill. Tricyano.	no figures, no improvement by interr.				6

TABLE III

Reproducibility of peak height ratios (stand. deviation)
for « normal » and « interrupted flow » injections

Exp. J. peak no.	% of total peak heights average of p runs		Exp. B1. peak no.	% of total peak heights average of p runs	
	normal/p = 4	interr. flow/p = 3		normal/p = 4	interr. flow/p = 4
2	17.3 ± 1.9	14.0 ± 0.3	2	15.3 ± 0.9	11.05 ± 0.6
3	14.5 ± 1.2	14.5 ± 0.45	3	11.25 ± 0.2	11.4 ± 0.7
4	13.0 ± 1.2	13.6 ± 0.8	4	14.8 ± 0.3	16.8 ± 0.3
5	13.5 ± 1.0	13.3 ± 1.0	5	15.35 ± 1.0	12.2 ± 0.4
6	13.9 ± 0.4	14.6 ± 0.1	6	11.7 ± 0.03	13.5 ± 0.2
7	13.7 ± 0.3	14.4 ± 0.2	7	12.45 ± 0.4	13.4 ± 0.2
8	4.2 ± 0.6	4.7 ± 0.5	8	8.8 ± 1.0	10.6 ± 0.9
9	9.9 ± 0.7	10.9 ± 0.3	9	10.25 ± 0.6	11.0 ± 0.5

calculating the % for each peak of the total of all peak heights for each chromatogram and then to determine the averages and the standard deviations for the peaks when « normal » and « interrupted flow » injections are compared. The standard deviations should be a measure for the reproducibility of peak ratios.

The results are presented in table III.

In both instances — though more clearly so in experiment J than in B1 — the « interrupted flow » injections seem to give a better reproducibility of peak height ratios than « normal » injections.

Conclusions on second experiment

It is concluded that « interrupted flow » injections of vapour samples with some injection ports considerably improve the quality of the resulting chromatograms as compared to « normal » injections. Separation of peaks is better, plate numbers of the columns are higher and peaks are sharper and show less tailing.

With injection ports of special design — characterized by restrictions to the flow of the carrier gas just ahead

of the actual point of injection — the same « improved » results are obtained without the necessity of flow interruption. Injections of vapour samples against high head-pressures may cause difficulties with such special designs and « interrupted flow » injections, where head-pressure is reduced, may still be of advantage ; no experiments, however, to support this view of ours, have been done.

Results seem to indicate that the reproducibility of peak height ratios is improved by « interrupted flow » injections.

WEURMAN (C.), VAN STRATEN (S.). — **Rapport du groupe de travail sur l'arôme du café.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 140-143, tabl.

Les rapporteurs présentent les activités qu'a eues le groupe de travail sur l'arôme du café depuis le dernier colloque de Trieste (1967). De ces travaux on peut conclure que l'on n'a pas trouvé de « meilleure » phase stationnaire que Lac-IR 296 pour les expériences en chromatographie gaz-liquide, mais que les injections interrompues ou limitées dans le gaz vecteur, juste avant l'orifice d'injection, ont amélioré l'efficacité de la séparation, l'acuité des pics et la reproductibilité générale du chromatogramme.

WEURMAN (C.), VAN STRATEN (S.). — **Report of the working party on coffee odour research methods.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 140-143, tabl.

A report is given on the activities of the « Working Party on Coffee Odour Research Methods » since the last symposium in Trieste (1967). It is concluded that no « better » stationary phase for our GLC experiments than Lac-IR 296 were suggested and that interrupted-flow injections or flow restrictions in the carrier gas line just before the injection port improved the separation efficiency, peak-sharpness, and general chromatogram reproducibility.

WEURMAN (C.), VAN STRATEN (S.). — **Bericht der Arbeitsgruppe für Kaffeearoma.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 140-143, tabl.

Die Referenten berichten über die Tätigkeit der Arbeitsgruppe für Kaffeearoma seit dem letzten Kolloquium in Triest (1967). Aus diesen Arbeiten geht hervor, dass keine « bessere » stationäre Phase als Lac-IR296 für die gaschromatographischen Versuche gefunden wurde, dass jedoch die unterbrochenen oder im Trägergas begrenzten Eingaben gerade vor der Injektionsöffnung die Wirksamkeit der Trennung, die Schärfe der Peaks und die allgemeine Reproduzierbarkeit des Chromatogramms verbesserten.

THE RELATIONSHIP OF VOLATILE COMPOUNDS IN ROASTED COFFEE BEANS TO THEIR PRECURSORS (*)

C. MERRITT, Jr., D. H. ROBERTSON, D. J. McADOO
U. S. Army Natick laboratories, Natick

The composition of the mixture of volatile compounds produced in roasted coffee beans has for decades been known to be exceedingly complex. It has been a continuing challenge to the flavor chemist to identify the components of these mixtures and to try to obtain some understanding of the formation of these compounds and the contribution they may have to the taste and aroma of coffee. The use of modern instrumental methods of analysis has greatly enhanced the chemists' ability to separate and identify the components of such mixtures and recent surveys by GIANTURCO (1,2) and others (3,4) list more than 300 components which have been identi-

fied. Nevertheless, current work shows this list still to be incomplete, and as methods become more sophisticated it will continue to grow. The objective of research on the composition of the constituents of coffee aroma is not the mere compilation of lists, however, but to relate the compounds found to precursors, to establish a mechanism for their formation, and ultimately to the control of the quality of the product. Although current progress is still very much in the nature of preliminary studies, the results demonstrate that it may eventually be possible to provide the information required.

METHODS

The instrumentation employed in the current investigation has been previously described (5-9). There have been, however, some changes in procedure due to the nature of the coffee samples, and some improvements in technique which may be helpful.

In general, the analyses were all performed using a combined gas chromatograph-rapid scanning mass spectrometer. The temperature of the gas chromatograph can be programmed from -196°C to over 200°C (10). The mass spectrum of eluted components can be displayed instantaneously on an oscilloscope or recorded on a direct writing oscillograph in about 5 secs. A new feature of the apparatus is a magnetic tape recorder which allows the spectrum to be conveniently recorded and stored for subsequent data analysis by means of a spectrum digitizer and a computer. The mode of recording the gas chromatogram has been improved. Instead of monitoring the intensity of a single spectrum peak the total ion current appearing at the spectrometer

output is recorded. The peak areas may be integrated directly to provide an approximate quantitative analysis of the sample as well as the qualitative analysis given by the mass spectra (11, 12). To maintain sensitivity in recording the chromatogram, helium ions are removed from the spectrum by a predynode gating system (12).

The analyses of volatile constituents of coffee have been confined entirely to the dry beans. The amount of water in the mixture of volatile components is accordingly much less than when analyzing a brew and results in less interference in the final analysis. This enabled the collection procedure to be simplified. The coffee samples were prepared by a commercial producer as vacuum packed whole beans in a one pound can. Altogether, three fractions of the volatiles of each sample were analyzed: a headspace, and what has been called a carbon dioxide and water fraction (7). The headspace was obtained first by means of the can puncturing device shown previously (7). About 50 ml of headspace gas are collected in the sample bottle. This may be swept directly onto the gas chromatograph column by carrier gas, or after disconnecting the bottle from the can, air and noncondensable gases may be removed by vacuum

(*) Cet exposé n'avait pu être présenté pendant le colloque.

after cooling the sample with liquid nitrogen. After again warming the concentrated headspace gas, it may be flushed onto the chromatographic column.

After removal of headspace a total condensate may be collected from the sample by straight forward vacuum distillation with a receiver at -196°C . However, to increase the speed of distillation it is best to transfer the contents of the can to a flask. The total condensate is further fractionated at -80°C into the so-called carbon dioxide and water fractions.

The water fraction was extracted with ether, the ether partially removed at -80°C by vacuum distillation and the remaining contents flushed onto the chromatogra-

phic column at -10°C as described by FORSS (13) and by MERRITT (8). The spectrometer valve was closed until the ether was completely eluted, then the temperature program for the column was started and a chromatogram was obtained. All components of the mixtures which have been identified have been characterized from the corresponding mass spectra of the eluted compounds.

In the present study the chromatographic columns were $1/8'' \times 10$ ft. packed columns, filled with 5% Carbowax 20 M on Chromosorb W for the headspace samples, 5% T. R. I. S. for the carbon dioxide fractions, and 5% D. E. G. S. for the water fractions.

RESULTS AND DISCUSSION

The objective of this study has been to establish by means of analysis of the volatile compounds in the coffee beans what relationships may exist between the components existing in green beans, and those subsequently found in the roasted beans. It was also hoped to establish, if possible, some basis for distinguishing among the several species and varieties of coffee. Accordingly, analyses were made of the volatiles in the headspace, carbon dioxide and water fractions of both green and roasted beans from samples of Santos, Columbian and Robusta coffees. Insofar as possible processing variables such as handling, roasting and packing conditions were made comparable. Since these were commercial beans, the exact history of the green beans was somewhat uncertain, but an analysis of the fat, protein and sugar content of the Santos and Columbian varieties at least showed them chemically to be nearly identical in a gross manner. A typical analysis showing the average composition of the celluloses, lignin, fat and ash for both green and roasted beans is seen in the upper portion of table I.

TABLE I

Average composition of coffee beans (a)

Constituent	Green, % d. b. (b)	Roasted, % d. b.
Celluloses	36	37
Lignin	5.6	5.8
Fat	11.4	11.9
Ash	3.8	4.0
Sucrose	7.3	0.3
Chlorogenic acid ..	7.6	3.5
Protein	11.6	3.1

(a) From MOORES and STEFANUCCI, Encyclopedia of Chemical Technology 5, 748 (1964).

(b) d. b. = dry basis.

It is readily apparent that relatively little change in the gross amounts of these constituents occurs on roasting. On the other hand, the sucrose, protein and chlorogenic acid contents shown in the lower portion of the table are drastically reduced by roasting. Some of the loss is known to be due to polymerization reactions of the sucrose, but much of the destruction of these components may also result in the production of the volatile flavor and aroma. An attempt has been made to interpret our analyses in the light of these observations.

The most abundant components identified among the volatile compounds isolated from both green and roasted coffee beans are listed in table II. Since it is obviously cumbersome to try to categorize in one table the 90-100 components identified in this survey for each of the various fractions of each of the varieties, etc., the data is summarized for each class of compound. The first group lists the aliphatic hydrocarbons. It is interesting to observe that there are appreciable numbers and quantities of hydrocarbons among the volatiles of both the green and roasted beans. In particular, the sequence of higher molecular weight normal alkanes in the green beans is particularly reminiscent of the series of hydrocarbons observed in samples of irradiated or autoxidized fats (8, 14, 15, 16). It is probably safe to postulate that the origin of most of the hydrocarbons in the green beans is due to oxidation of the fat in storage or transportation between the pulping operations at the growth site and processing operations at the roasting plant. Roasting does not in itself seem to have much effect, except possibly to remove some of the compounds by the heating or to produce some additional olefinic type components.

The heterocyclic compounds found in most coffee aroma analyses may be divided into two groups: the furans and the nitrogen compounds. Several other homologs and derivatives of the compounds listed here are also found, but in much smaller quantities. They have

been omitted from consideration for the present. There are, however, two significant observations to be made about heterocyclic compounds. First the furans are present in both green and roasted beans, but to a greater extent in the roasted beans. From the work of HEYNS (17) it can be postulated that the furans and related compounds are derived from the sugars and that the degradation process involves in addition to pyrolytic decomposition,

a chemical mechanism [e. g. a Maillard reaction (18)] before roasting.

The striking increase in the number and amount of nitrogen heterocycles, and also thiaalkanes and thiophenes, in the volatile components from the roasted beans suggests that these compounds are primarily the result of pyrolysis. The same may be said of the aldehydes and ketones, and certain aromatic compounds.

TABLE II

Composite composition [3 varieties (a)] of volatile compounds isolated from ground coffee beans

Green	Roasted (b)	Green	Roasted
Hydrocarbons		Esters	
ethane		methyl formate	methyl formate
ethene	ethene	methyl acetate	methyl acetate
i-butane	n-butane	methyl propanoate	methyl propanoate
	i-butane		methyl butanoate
	butene	methyl pentanoate	
n-pentane	n-pentane	methyl hexanoate	methyl hexanoate
i-pentane	i-pentane		
	-pentene	ethyl acetate	
-hexane	-hexane	ethyl butanoate (c)	
	-hexene	ethyl pentanoate (c)	
-heptane	-heptane	propyl propanoate (c)	
-octane	-octane	hexyl acetate (c)	2-furfuryl acetate
-octene	-octene		
-nonane		Sulfur compounds	
-nonene		sulfur dioxide	sulfur dioxide
-decane	n-decane	carbon disulfide	carbon disulfide
-decene		2-thiapropane	2-thiapropane
-undecane	2-methyl-1,3-butadiene		2-thiabutane
			2,3-dithiabutane
			thiophene
			methylthiophene
Aldehydes		Heterocyclic compounds	
ethanal	ethanal	furan	furan
	propanal	2-methylfuran	2-methylfuran
	butanal	2,5-dimethylfuran	2,5-dimethylfuran
2-methyl propanal	2-methyl propanal		
	2-methyl 2-propen-1-al	N-methylpyrrole	pyrrole
pentanal	pentanal		N-methylpyrrole
2-methyl butanal	2-methyl butanal		N-ethylpyrrole
2-methyl 2-buten-1-al	2-methyl 2-buten-1-al		2-methylpyrrole
	2-methyl pentanal		N-methyl, 2-methylpyrrole
	furfural		pyrazine
	5-methyl 2-furfural		2-methylpyrazine
	benzaldehyde		
Ketones		Aromatic compounds	
2-propanone	2-propanone	benzene	benzene
2-butanone	2-butanone	toluene	toluene
	3-pentanone	xylene	xylene
2,3-butanedione	2-heptanone	ethylbenzene	ethylbenzene
	2,3-butanedione	c ₉ aromatic	
	2,3-pentanedione	c ₁₀ aromatic	
	2,3-hexanedione		
	3,4-hexanedione		
	cyclopentanone		
	2-furylmethylketone		

(a) Robusta, Columbian, Santos

(b) 400-430° F

(c) Columbian beans only.

Recent studies in this laboratory have been concerned with the analysis of amino acids by means of pyrolysis/gas chromatography/mass spectrometry (19). The results of this study now provide some insight to permit the postulation of precursors for many of the heterocycles, sulfur compounds and carbonyl compounds found among the volatile compounds in roasted coffee beans. Some of the compounds identified as pyrolyzate products of amino acids and proteins (many of the same compounds are found among protein pyrolyzates as with the pure amino acids) are given in table III. Thus, various carbonyl compounds can be seen to be produced from the aliphatic type amino acids such as glycine, alanine, valine, leucine, and lysine. The sulfur containing amino acids yield mercaptans, sulfides and thiophenes. Amino acids with aromatic groups such as phenylalanine and tyrosine give correspondingly benzene and alkyl benzenes. The nitrogen heterocycles are derived from still other amino acids. Serine, a hydroxy amino acid gives pyrazine whereas the pyrroles are apparently derived from the prolines. An examination of the hydrocarbons found among the volatiles shows an increase in the number of olefins. The study of protein pyrolyzates shows olefins to be among the pyrolysis products of the dicarboxylic amino acids.

A different picture is presented for the ester composition of the coffee volatiles. In this case, rather fewer components are found in the roast beans than in the green beans and there is little increase in amount of the esters. The esters are apparently produced in connection with the metabolic processes in the fruit and are not associated with pyrolysis processes. An exception is furfuryl acetate, but, in general, there are few pyrolysis reactions associated with the presence of the esters. One additional aspect concerning esters is interesting. Higher esters of higher alcohols were found only among the green beans of the Columbian variety. This suggests the possibility that such information may serve as a means of qualitative identification of coffee bean variety.

Much of the work that is reported here is quite preliminary. New techniques are being developed which

it is hoped will lead to more direct correlations between the aroma constituents and their precursors and it is hoped that this information will provide a more secure basis upon which to evaluate and control the quality of coffee.

TABLE III

Some pyrolysis products of various amino acids (a)

Amino acid	Pyrolysis product (b)
Glycine	acetone
Alanine	ethanal
	methylpropanal
Valine	2-methylpropanal
Norvaline	n-butanal
Leucine	2-methylpropanal
	3-methylbutanal
Isoleucine	2-methylpropanal
	2-methylbutanal
Serine	propanal
	methylpropanal
	pyrazine
Threonine	2-hexanone
	propadiene
Taurine	thiophene
Methionine	methanethiol
	2-thiapentane
Cystine	methyl thiophene
	ethyl thiophene
Phenylalanine	benzene
	ethylbenzene
	styrene
	indene
Tyrosine	toluene
Proline	pyrrole
	N-methylpyrrole
Hydroxyproline	N-methylpyrrole

(a) Proteins containing these amino acids produce the same pyrolyzates.

(b) Only those compounds found among coffee volatiles are listed.

BIBLIOGRAPHY

1. M. A. GIANTURCO. — *In Chemistry and Physiology of Flavors*, H. W. Schultz, E. A. Day, L. M. Libbey, Eds. The AVI Publishing Co., pp. 431-449 (1967).
2. R. E. BIGGERS, J. J. HILTON and M. A. GIANTURCO. — *J. Chromatographic Science*, **7**, 453 (1969).
3. F. GAUTSCHI, Firmenich & Co., Geneva, Switzerland: private communication.
4. F. STOFFELSMA, G. SIPMA, D. K. KETTENES and J. PYPKER. — *J. Ag. Food Chem.*, **16**, 1000 (1968).
5. M. L. BAZINET and C. MERRITT, JR. — *Anal. Chem.*, **34**, 1143 (1962).
6. C. MERRITT, JR., M. L. BAZINET, J. H. SULLIVAN and D. H. ROBERTSON. — *J. Ag. Food Chem.*, **11**, 152 (1963).
7. C. MERRITT, JR. and D. H. ROBERTSON. — *Proceedings 2nd Colloque International sur la Chimie des Cafés*, p. 183 (1965).
8. C. MERRITT, JR. P. ANGELINI, M. L. BAZINET, and D. J. McADOO. — *In Flavor Chemistry*, I. Hornstein, Ed. A. C. S. *Advances in Chemistry Series* N° 56, pp. 225-240 (1966).
9. P. ANGELINI, D. A. FORSS, M. L. BAZINET and C. MERRITT, JR. — *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **44**, 26 (1967).

10. C. MERRITT, JR., J. T. WALSH, D. A. FORSS, P. ANGELINI and S. M. SWIFT. — *Anal. Chem.*, **36**, 1502 (1964).
11. P. ANGELINI and C. MERRITT, JR., Paper N° 7, Division of Agricultural and Food Chemistry, 154th National Meeting of the American Chemical Society, Chicago, Illinois, September 1967.
12. C. MERRITT, JR. — *Applied Spectroscopy Reviews*, **3**, N° 1 (1970). In Press.
13. D. A. FORSS, M. L. BAZINET and S. M. SWIFT. — *J. Gas Chrom.*, **2**, 134 (1934).
14. C. MERRITT, JR., P. ANGELINI, and D. J. McADOO. — *In Radiation Preservation of Foods*, E. S. Josephson and J. H. Frankfort, Eds. A. C. S. Advances in Chemistry Series N° 65, pp. 26-34 (1967).
15. D. A. FORSS, P. ANGELINI, M. L. BAZINET and C. MERRITT, JR. — *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **44**, 141 (1967).
16. C. MERRITT, JR., D. A. FORSS, P. ANGELINI, and M. L. BAZINET. — *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **44**, 144 (1967).
17. K. KEYNS, R. STUTE, and H. PAULSEN. — *Carbohydrate Res.*, **2**, 132 (1966).
K. HEYNS, U. SAGE, and H. PAULSEN. — *Carbohydrate Res.*, **2**, 328 (1966).
K. HEYNS and M. KLIER. — *Carbohydrate Res.*, **6**, 436 (1968).
18. J. E. HODGE. — *In Chemistry and Physiology of Flavors*, H. W. Schultz, E. A. Day, L. M. Libbey, Eds. The AVI Publishing Co., pp. 465-491 (1967).
19. C. MERRITT, JR. and D. H. ROBERTSON. — *J. Gas Chrom.*, **5**, 96 (1967).

MERRITT (C. Jr.), ROBERTSON (D. H.), McADOO (D. J.). — **Relations entre les constituants volatils du café torréfié en grains et leurs précurseurs.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 144-148, tabl., réf.

Afin d'étudier les précurseurs des constituants volatils du café torréfié, trois fractions (espace de tête, « fraction dioxyde de carbone » et « fraction aqueuse » séparées après distillation sous vide) d'échantillons de cafés en grains Santos, Colombie et Robusta, verts et torréfiés, ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse à température programmée couplée à la spectrométrie de masse.

La composition en hydrocarbures est peu modifiée par la torréfaction, mais on constate une augmentation en nombre et en quantité des composés carbonylés, des hétérocycles azotés et des composés soufrés. Des essais de pyrolyse ont montré que leurs précurseurs étaient à chercher parmi les acides aminés et les protéines, les furannes dérivant, eux, des sucres. Certains esters disparaissent au cours de la torréfaction alors que d'autres voient leur teneur augmenter.

Certains esters d'alcools supérieurs n'ont été mis en évidence que dans les cafés verts de Colombie.

MERRITT (C. Jr.), ROBERTSON (D. H.), McADOO (D. J.). — **The relationship of volatile compounds in roasted coffee beans to their precursors.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 144-148, tabl., réf.

In order to study the precursors of volatile constituents of roasted coffee, three fractions (head space, « carbon dioxide fraction » and « aqueous fraction » separated by distillation in vacuo) of samples of Santos, Columbia and Robusta coffee, green and roasted beans, have been analysed by gas chromatography at programmed temperature with mass spectrometry.

The composition in hydrocarbons is little modified by roasting, but an increase in the number and the quantity of carbonyl, heterocyclic nitrogen and sulphur compounds is noted. Pyrolysis tests have shown that their precursors were to be looked for among the amino acids and the proteins, the furans deriving from sugars. Certain esters disappeared in the course of roasting whereas others increased in quantity.

Certain esters of the higher alcohols have been identified only in Columbian green coffees.

MERRITT (C. Jr.), ROBERTSON (D. H.), McADOO (D. J.). — **Beziehungen zwischen den flüchtigen Komponenten des Bohnenröstkaffees und ihren Vorläufern.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 144-148, tabl., réf.

Zur Untersuchung der Vorläufer der flüchtigen Komponenten des Röstkaffees wurden drei nach der Destillierung im Vakuum getrennte Fraktionen (Head-space, « Kohlendioxydfraktion », wässrige Fraktion) von roh und gerösteten Santos, Columbian und Robusta Bohnenkaffeemuster mittels Gaschromatographie bei programmierter Temperatur gekuppelt mit Massenspektrophotometrie analysiert.

Am Bestand an Kohlenwasserstoffen wird durch die Röstung wenig geändert, dagegen stellt man eine zahlenmässige und quantitative Zunahme der Carbonylverbindungen, der stickstoffhaltigen Heterocyclen und der schwefelhaltigen Verbindungen fest. Pyrolyseversuche haben gezeigt, dass ihre Vorläufer bei den Aminosäuren und den Proteinen zu suchen sind, während die Furane von den Zuckerstoffen abstammen. Gewisse Ester verschwinden im Verlauf des Röstprozesses, während bei anderen der Gehalt zunimmt.

Gewisse Ester höherer Alkohole konnten nur in den Columbian Rohkaffees nachgewiesen werden.

REMARQUES SUR LE DOSAGE DE LA CAFÉINE

P. NAVELLIER, R. BRUNIN et G. DALGER

Laboratoire municipal de Paris
et Institut Français du Café et du Cacao, Paris

Au second Colloque, WILLEMS (1) a montré la nécessité d'harmoniser les dosages de caféine et de choisir une méthode de référence. L'Organisation pour la Normalisation Internationale (I. S. O.) a décidé d'étudier ce problème, en liaison avec l'A. S. I. C. : DAWSON fut chargé de diriger ce travail. Un comité d'étude, constitué en France, apporte sa contribution en proposant une

méthode de référence, sans doute longue et complexe, mais dont la valeur est confirmée par une expérience de nombreuses années. Ce comité souhaite cependant de choisir pour la pratique des méthodes plus rapides, et, lorsque l'extraction totale de la caféine du café vert sera bien connue, d'aboutir à une méthode de référence plus expéditive.

RÉACTIFS UTILISÉS DANS LES PRINCIPALES MÉTHODES DÉCRITES

Nous commencerons cet exposé en examinant les procédés très divers proposés par les auteurs, aux différents stades du dosage.

Préparation de l'échantillon

Bien homogénéiser l'échantillon et déterminer la teneur en eau. Il suffit de broyer l'échantillon et de sécher la poudre soit par la méthode spéciale, soit à 103° C pendant 6 heures. Les erreurs sont importantes sur la caféine, surtout dans le cas des cafés verts, lorsque l'on néglige la teneur en eau de l'échantillon.

Libération de la caféine

La caféine incluse dans les grains de café est enfermée dans des tissus peu perméables aux solvants ; elle est, au moins partiellement, combinée avec des molécules tanniques (acide chlorogénique notamment) en formant des composés plus ou moins insolubles.

L'un des moyens les plus efficaces pour libérer la caféine de sa combinaison est le chauffage : l'extraction de la caféine est plus aisée dans le cas des cafés torréfiés que dans celui des cafés verts. Mais la torréfaction provoque également le départ d'une partie de la caféine

par sublimation et elle ne saurait par conséquent constituer une technique utilisable pour le dosage. Ce sont donc les agents chimiques qui sont utilisés.

L'eau et surtout la vapeur d'eau ou l'eau très chaude sous pression provoquent une hydrolyse efficace des combinaisons de la caféine : ce procédé est couramment utilisé dans la fabrication industrielle des cafés décaféinés.

POWER et CHESTNUT (2) extraient directement la caféine par l'alcool, mais ils entraînent de nombreuses autres substances et ils doivent effectuer une purification très laborieuse.

La plupart des auteurs font appel à des acides ou à des alcalis pour déplacer la caféine. Ainsi LEVINE (3) utilise une solution diluée d'acide chlorhydrique, alors que HADORN et ZURCHER (4) emploient l'acide sulfurique concentré et que KOGAN, DI CARLO et MAYNARD (5) choisissent l'acide sulfurique dilué. Mais la plupart des méthodes comportent l'addition d'alcalis : ainsi, BAILEY ANDREW (6) BOWER, ANDERSON et TITUS (7), SMITH et REES (8) utilisent l'oxyde de magnésium, alors que GOBERT (9), KUM-TATT (10), BORKER et SLOMAN (11), NAVELLIER et BRUNIN (12) préfèrent employer l'ammoniaque.

Sans doute le choix de l'agent chimique destiné à déplacer la caféine est important, mais il est plus important encore de considérer la manière selon laquelle on le fait agir : la concentration, la durée, la température

et surtout la mise en contact du réactif avec la caféine ont une influence sur le résultat à obtenir.

L'expérience montre que cette partie de l'analyse est particulièrement délicate lorsque l'on examine des cafés décaféinés, et surtout des cafés verts décaféinés, dont la plus grande partie de la caféine a été extraite grâce à de puissants moyens industriels. Le chimiste analyste rencontre beaucoup de difficultés pour récupérer totalement les traces de caféine qui subsistent dans les échantillons.

Extraction de la caféine

A ce stade de l'analyse, deux facteurs principaux doivent être considérés : le choix du solvant et le procédé d'extraction.

L'un des meilleurs solvants de la caféine est le chloroforme, qui en dissout environ 20 g dans 100 ml à la température ordinaire. Ce solvant est efficace, inflammable, facile à utiliser lors des extractions liquide-liquide ou dans les appareils à épuisement continu, et il entraîne avec lui assez peu d'impuretés, sauf la matière grasse facile à séparer. Il a donc été choisi comme solvant d'extraction notamment par HADORN et ZURCHER (4), par KUM-TATT (10). C'est également le solvant indiqué dans le projet de méthode de référence qui sera exposé plus loin.

L'eau froide dissout peu de caféine (2 p. 100 environ), mais l'eau bouillante en dissout jusqu'à 66 p. 100. En outre, l'eau bouillante favorise l'hydrolyse des composés de la caféine : il n'est donc pas surprenant que ce solvant soit très souvent recommandé. BAILEY ANDREW (6), BARBERA (13), BOWER, ANDERSON et TITUS (7), KOGAN, DI CARLO et MAYNARD (5), LEVINE (3), SMITH et REES (8) et bien d'autres auteurs ont préféré utiliser l'eau comme solvant d'extraction de la caféine, bien que l'eau dissolve beaucoup d'autres substances dont il faut se débarrasser ensuite.

Quelques autres solvants ont également été retenus : le tétrachlorure de carbone, par de WEEVER (14) ; l'acétate d'éthyle, par GOBERT (9) ; l'azéotrope méthylal-méthanol, par NAVELLIER et BRUNIN (12). Ce dernier solvant ne dissout que 1,5 g de caféine dans 100 ml à la température ordinaire, et 3,7 g à 40° C (il bout à 41,3° C). Toutefois, lorsque l'on utilise un appareil à extraction continue (Soxhlet ou B. B. S.), ce mélange azéotropique semble extraire un peu plus de caféine que les autres solvants. Sans doute, l'extrait brut obtenu est très impur, et la caféine doit être soigneusement séparée, mais la matière grasse du café est présente dans cet extrait brut, et elle peut donc être dosée au cours de la même opération.

Les procédés d'extraction le plus souvent recommandés sont l'immersion du café dans le solvant bouillant, avec ou sans réfrigérant à reflux, et l'épuisement continu dans des appareils tels que le Soxhlet, le B. B. S., le Kumagawa, etc...

La première technique a l'avantage de la simplicité et de la rapidité, mais elle a l'inconvénient de réaliser un partage de la caféine entre la phase liquide et le résidu solide, qui peut en retenir un peu par adsorption. Cette cause d'erreur est faible, et peut être négligée dans le cas des méthodes pratiques. Il semble toutefois que, pour une méthode de référence, l'extraction continue doive être préférée.

Purification de la caféine

Cette partie du dosage est particulièrement délicate et elle a stimulé l'imagination de beaucoup de chercheurs. Fort heureusement, la molécule de caféine n'est guère fragile et elle résiste souvent mieux aux agents chimiques que la plupart des impuretés que l'on désire éliminer. En outre, les caractères de solubilité de la caféine dans les milieux aqueux et organiques sont utilisables pour la séparer de beaucoup d'autres substances, notamment de la trigonelline qui reste dans la phase aqueuse acide alors que la caféine passe dans la phase chloroformique. La nature et la proportion des substances entraînées avec la caféine dépendent évidemment de la composition de l'échantillon (café vert, ou café torréfié, ou extrait de café, ou mélange de café avec ses succédanés). La purification comporte généralement plusieurs opérations successives, dont chacune a pour objet d'enlever ou de détruire certaines substances, tout en respectant l'intégrité de la caféine à doser. Quelques exemples de procédés de purification sont indiqués ci-après :

a) L'acide sulfurique insolubilise une partie des composés acides entraînés lorsque l'extraction a été effectuée en milieu alcalin, et retient dans la phase aqueuse les substances alcalines. POWER CHESTNUT (2), BAILEY ANDREW (6) utilisent cet acide, dont l'emploi est également préconisé dans le projet de méthode de référence.

b) La paraffine, mêlée à la solution aqueuse chaude, se mélange aux matières grasses, résineuses ou goudroneuses, puis elle remonte à la surface et forme par refroidissement une couche durcie qui retient ces impuretés. Compte tenu des volumes respectifs de la phase aqueuse et de la paraffine, celle-ci ne dissout pratiquement pas de caféine. Il est toutefois possible de séparer la couche de paraffine afin de la traiter à nouveau par l'eau bouillante, et de vérifier ainsi que d'éventuelles traces de caféine n'ont pas été retenues. La paraffine est utilisée par GOBERT (9), de WEEVER (14) et dans le projet de méthode de référence.

c) Le permanganate de potassium, en milieu faiblement alcalin, détruit diverses substances sans altérer la caféine. L'excès de permanganate est ensuite éliminé par addition prudente d'eau oxygénée : GOBERT (9), de WEEVER (14), MANUEL SUISSE (15), projet de méthode de référence. Ces réactifs doivent être utilisés

en respectant les techniques, sinon ils provoquent des pertes.

d) L'amalgame d'aluminium permet de réaliser la réduction du 5-hydroxyméthylfurfural présent notamment dans les mélanges de succédanés à base de chicorée, et soluble dans le chloroforme. Grâce à cette purification, SMITH et REES (8) ont amélioré le dosage spectrophotométrique de la caféine.

[N. B. Depuis, les auteurs ont remplacé l'amalgame d'aluminium par le bisulfite de sodium (16).]

e) Les techniques chromatographiques, sur colonne ou sur papier, ont donné aux chimistes des moyens nouveaux et efficaces pour purifier les solutions de caféine.

Les colonnes garnies d'oxyde de magnésium et d'un adjuvant de filtration sont préconisées par BARBERA (13), par BOWER, ANDERSON et TITUS (7), par SMITH et REES (8).

HADORN et ZUCHER (4), KUM-TATT (10) utilisent une colonne d'alumine, alors que LEVINE (3) choisit une colonne de Celite humectée d'une solution d'hydroxyde de sodium. BORKER et SLOMAN (11) font passer leur solution successivement sur une colonne alcaline et sur une colonne acide. Enfin, KOGAN, DI CARLO et MAYNARD (5) séparent la caféine de la trigonelline par chromatographie sur papier, en utilisant l'isopropanol chlorhydrique comme éluant.

f) ADDA (17) purifie la caféine par sublimation, au moyen d'un appareillage approprié.

Dosage proprement dit

Lorsqu'il a obtenu une solution de caféine convenablement purifiée, le chimiste dispose d'un choix d'excellentes méthodes pour apprécier la quantité de caféine présente dans la prise d'essai.

a) On peut évaporer le solvant et peser la caféine : GOBERT (9), de WEVER (14) POWER CHESTNUT (9).

Ce procédé permet en outre d'apprécier visuellement la pureté du produit d'après l'aspect des cristaux et leur coloration éventuelle, et le dosage peut être utilement complété et confirmé, par exemple en dosant l'azote total ou en préparant une solution de caféine de concentration adéquate pour une mesure spectrophotométrique dans l'ultra violet. Ces dispositions figurent dans le projet de méthode de référence.

b) La méthode de Kjeldahl permet de doser l'azote total qui sera exprimé en caféine anhydre en multipliant le résultat du dosage par le coefficient 3,464.

Ce dosage est très souvent préconisé, soit seul, soit comme complément à l'analyse gravimétrique. (Méthode de référence.)

c) La spectrophotométrie dans l'ultra violet est une méthode de dosage rapide largement utilisée par de nombreux auteurs. (Méthode de référence.)

KUM-TATT (10) a montré qu'une correction judicieuse

de la ligne de base améliore sensiblement l'exactitude des résultats.

d) Les méthodes iodométriques, moins souvent conseillées, ont cependant leurs partisans. DE GRUYTER (18) a adopté une méthode rapide, qui est une modification de la technique de PRANGE et WALTHER (19) : la caféine est extraite par le chloroforme qui est évaporé. Le résidu est dissous dans l'eau et la caféine est précipitée par un excès d'iode en milieu sulfurique. Après 5 minutes, le précipité est séparé sur un creuset filtrant G4 et lavé avec de l'acide sulfurique dilué. L'excès d'iode est dosé dans le filtrat par une solution titrée de thiosulfate. VITZTHUM (20) cite également les méthodes iodométriques de PUTZE (21), de PFANDL (22), de HASE (23), de HORBASZEWSKI (24) et de KOTIDI (25).

e) Le dosage colorimétrique de la caféine a été préconisé par WACHSMUTH et VAN KOECKHOVEN (26) :

La caféine est dissoute dans 0,25 ml de solution alcaline d'acétylacétone (0,5 ml d'acétylacétone 2,4 pentanedione + 5 ml d'hydroxyde de sodium 2 N). Le tube est bouché et maintenu à 80° C pendant 7 minutes. Après refroidissement, ajouter 0,5 ml de solution chlorhydrique de p-diméthylaminobenzaldéhyde (0,100 g de p-diméthylaminobenzaldéhyde + 2 ml d'acide chlorhydrique concentré), et porter de nouveau pendant 7 minutes à 80° C. Après refroidissement, ajouter 10 ml d'eau et mesurer aussitôt à la longueur de 615 nm.

D'après les auteurs, la réaction serait quantitative et spécifique, même en présence de théobromine, de théophylline, d'autres bases puriques ou pyrimidiques ou d'alcaloïdes, mais le mode opératoire doit être scrupuleusement respecté.

HADORN et SUTER (27) utilisent une autre méthode colorimétrique : ils purifient la caféine par chromatographie et dosent le périodure de caféine par colorimétrie.

f) Le dosage de la caféine par dilution isotopique a été étudié par CIRANNI, GIULIANO et ZIFFERERO (28). Voici le résumé de leur mode opératoire :

Ajouter à l'échantillon à analyser une quantité connue de caféine marquée par introduction d'un atome de radiocarbone dans le groupe méthyle en position 7. Extraire alors une proportion quelconque de la caféine totale contenue dans l'échantillon, la purifier soigneusement, la peser, puis mesurer son activité. Soit :

G_1 = Masse de la caféine radioactive ajoutée,
 G_2 = Masse de la caféine préexistante dans la prise d'essai,

i = Activité de G_1 ,

f = Activité de $G_1 + G_2$,

la teneur en caféine de la prise d'essai est :

$$G_2 = G_1 \left(\frac{i}{f} - 1 \right).$$

g) La chromatographie en phase gazeuse a été appliquée au dosage de la caféine par VITZTHUM (20). Cet auteur utilise une colonne faiblement polaire, garnie de billes de verre enduites de Carbowax 20 M. Avec un détecteur à ionisation de flamme et en choisissant le

pyrène comme étalon interne, cette méthode permet d'obtenir en 40 minutes des résultats utilisables pour l'analyse industrielle.

h) Le titrage en milieu non aqueux (chloroforme et anhydride acétique) a été étudié par CALZOLARI et FAVRETTO GABRIELLI (2). Enfin, FAZZINA, WHITNEY et FERRY présentent à ce colloque une technique permettant un rendement élevé (30).

LES PROBLÈMES POSÉS PAR LE CHOIX D'UNE MÉTHODE DE RÉFÉRENCE

En présence de la diversité des méthodes proposées, on peut se demander si une méthode de référence pour doser la caféine est nécessaire, et on doit se demander si elle est réalisable.

Chacun des auteurs des méthodes précédemment citées a effectué une étude attentive, et il a constaté que les résultats obtenus par lui en appliquant son propre mode opératoire étaient en bonne concordance avec ceux donnés par quelques autres méthodes : il suffit de se reporter à la littérature citée pour se rendre compte de tout le travail qui a été ainsi accompli.

Or, lorsque WILLEMS (1) a présenté, au second Colloque international sur la chimie du café, les résultats d'une chaîne d'analyses internationales au cours de laquelle de nombreuses méthodes avaient été utilisées, il n'a pas été possible de choisir, parmi les résultats très dispersés, ceux qui représentaient avec une bonne probabilité la teneur exacte en caféine du café vert examiné. L'analyse statistique ne peut interpréter utilement une telle diversité de chiffres lorsqu'on ignore la part d'erreurs attribuables aux méthodes elles-mêmes, et la part d'erreurs attribuables à la manière dont elles ont été appliquées. Ce travail collectif a donc montré l'intérêt que présenterait une méthode de référence. De plus, le Sous-Comité « Stimulants » de l'Organisation Internationale de Normalisation (ISO/TC 34/SC 8), réuni à Londres, en octobre 1968, a estimé qu'une méthode de référence serait utile, et il a souhaité en outre que cette méthode soit générale, c'est-à-dire applicable au dosage de la caféine dans tous les produits inclus dans le domaine de ses travaux : café vert ou torréfié, thé, café et thé décaféinés, extraits de café et extraits de thé.

L'objet du présent exposé est de rechercher sur quels critères on peut choisir une méthode de référence.

La première difficulté rencontrée dans la mise au point d'une méthode de référence est l'absence d'un échantillon pouvant servir d'étalon.

On doit contrôler la valeur d'une méthode de dosage en utilisant une quantité connue de caféine pure, que l'on doit retrouver intégralement à la fin des mani-

L'énumération des méthodes mentionnées ci-dessus est très incomplète : elle a surtout pour objet de mettre en évidence la diversité des solutions proposées aux étapes successives de l'analyse. Les rapports successifs de BORKER et YERANSIAN (31), et de BORKER (32), (33), (34), soulignent l'évolution des techniques. On fera appel à ces procédés pour choisir des techniques rapides, contrôlées par une méthode de référence.

pulations. Mais cet essai ne renseigne pas sur l'extraction plus ou moins complète de la caféine contenue dans un échantillon de café ni sur l'influence perturbatrice d'impuretés entraînées au cours des diverses manipulations.

L'addition de surcharges de caféine à la prise d'essai apporte des renseignements complémentaires, mais qui ne sont pas encore convaincants. La reproductibilité satisfaisante des résultats, pour importante qu'elle soit, ne met pas à l'abri d'erreurs systématiques insoupçonnées.

Dans ces conditions, deux remarques complémentaires semblent pouvoir être formulées :

1° La meilleure méthode de dosage est celle qui, pour un échantillon donné, donne les résultats les plus élevés, à condition que des contrôles montrent qu'il s'agit bien de caféine pure. Cette remarque oriente le choix de la méthode de référence vers une technique qui permette de séparer la caféine pure, de la peser, et d'en contrôler la nature et la pureté par les moyens appropriés : dosage de l'azote total, spectre U. V., chromatographie sur papier, réactions chimiques d'identification, constantes physiques.

2° La caféine contenue dans un café torréfié doit exister dans le café vert mis en œuvre, car il est peu vraisemblable que de la caféine puisse se former au cours de la torréfaction. Elle peut cependant être libérée de certaines combinaisons et devenir ainsi plus accessible au dosage. Malheureusement, une quantité indéterminée de caféine est volatilisée au cours de la torréfaction, et sa récupération quantitative est difficile.

Lorsque l'on calcule un bilan de torréfaction en rapportant les résultats analytiques du café torréfié à la matière sèche du café vert mis en œuvre, on constate en effet un déficit progressif de caféine selon que la torréfaction a été plus ou moins poussée. Dans un travail antérieur NAVELLIER et BRUNIN (35) ont ainsi obtenu les résultats suivants, en calculant le bilan de torréfaction (36), c'est-à-dire en rapportant les résultats obtenus sur le café torréfié au café vert supposé sec mis en œuvre :

		Caféine anhydre en grammes pour 100 g de café vert sec mis en œuvre :	
		Café Robusta de Nouvelle-Calédonie	Café Arabica de Nouvelle-Calédonie
résultats rapportés au café vert sec	A. Café vert (sec)	2,16	1,24
	B. Torréfaction commençante (début des fumées)	2,19	1,25
	C. Torréfaction « blonde »	2,13	1,24
	D. Torréfaction « chataine »	2,06	1,18
	E. Torréfaction « brune »	1,84	0,90
	F. Torréfaction excessive (café carbonisé)	0,47	0,41

L'examen de ce tableau confirme la perte de caféine lorsque le café est fortement torréfié, mais il fait apparaître aussi une anomalie : dans les deux cas, la teneur en caféine paraît croître légèrement au début de la torréfaction (essai B), et le café Arabica ne retrouve sa teneur initiale que dans l'essai C.

Ces résultats, dont chacun représente la moyenne de plusieurs déterminations concordantes, peuvent s'expliquer de trois manières : ou bien il s'agit de minimes erreurs de routine comme nous l'avons cru, ou encore

il s'est formé un peu de caféine au début de la torréfaction, ce qui est douteux, ou enfin la méthode de dosage utilisée n'avait pas extrait la totalité de la caféine du café vert, ce qui est plus probable. Cette méthode était celle en usage au laboratoire municipal de Paris.

Afin de mieux apprécier ce moyen de critiquer la validité de la méthode, nous avons également calculé le bilan de torréfaction d'un café décaféiné. Les résultats obtenus ont été les suivants :

	Caféine anhydre en grammes pour 100 g de café vert sec décaféiné mis en œuvre	
	Résultats obtenus par pesée de l'extrait, avec une seule purification au permanganate	Résultats obtenus par dosage de l'azote total
Café vert (sur sec)	0,062 } 0,045 } 0,049 } Moyenne : 0,052	0,047 } 0,045 } 0,045 } Moyenne : 0,046
Café torréfié (rapporté au café vert sec corres- pondant)	0,092 } 0,096 } 0,105 } Moyenne : 0,098	0,054 } 0,055 } 0,060 } Moyenne : 0,056
(Rendement brut de la torréfaction : 82,61 %)		

Cet essai d'orientation permet d'avancer les deux observations suivantes :

1° Les dosages gravimétriques, lorsqu'une seule purification par le permanganate est effectuée, donnent des résultats excédentaires sans doute attribuables à de petites quantités d'impuretés entraînées avec la caféine et non détruites. Ces impuretés, peu abondantes dans le cas du café vert, sont plus abondantes dans le cas du café décaféiné torréfié et perturbent gravement le dosage des traces de caféine. Il est donc indispensable de compléter cet essai, soit en dosant l'azote total de l'extrait pesé, soit en faisant une mesure spectrophotométrique, soit en procédant à une nouvelle purification au permanganate. De très nombreux essais de routine avaient déjà permis de faire cette remarque, et l'aspect des résidus pesés suffit souvent à montrer qu'ils sont souillés.

2° En ne tenant compte que des chiffres obtenus par dosage d'azote, il apparaît que l'on trouve davantage de caféine après torréfaction. Il ne s'agit pas cette fois d'un début de torréfaction, comme dans les exemples précédents, mais d'une torréfaction « commerciale » (17,39 p. 100 de perte au feu). Or, dans le cas du café décaféiné, la perte de caféine par sublimation paraît être nulle ou négligeable. On est donc amené à reprendre l'hypothèse précédemment émise, selon laquelle l'extraction de la caféine du café vert serait souvent incomplète. Ce fait est particulièrement vraisemblable dans le cas du café décaféiné, dont toute la caféine aisément extractible a déjà été enlevée par les opérations technologiques.

L'objet de ces remarques est de suggérer des directives pour la mise au point d'une méthode de référence, de laquelle on devrait exiger autre chose que la repro-

ductibilité des résultats ou la commodité d'exécution : la complexité des manipulations compte moins que la valeur des résultats, puisqu'une méthode de référence est avant tout destinée à servir d'étalon pour la mise au point des méthodes pratiques.

Le « Task group » qui a été constitué à la suite de la réunion de l'I. S. O. a décidé de collaborer avec l'Association Scientifique Internationale du Café, et de commencer par étudier et, si possible, perfectionner la méthode spectrophotométrique de SMITH et REES (8) et la méthode dite du Laboratoire Municipal de Paris, à partir du mode opératoire décrit par NAVELLIER et BRUNIN et modifié comme suit :

Un comité d'étude français a entrepris l'examen critique de cette dernière méthode. Après plusieurs

essais collectifs ou individuels sur quelques problèmes, le Comité a rédigé un nouveau texte de la méthode. Ce texte est à son tour soumis à l'examen critique, en vue de son amélioration éventuelle. Il est présenté aux membres de l'A. S. I. C. désireux de participer à cette étude sous la forme du document préparé à l'intention du « Task group » de l'I. S. O.

Voici le texte détaillé d'un mode opératoire de référence : je vous invite à l'examiner, à voir quelles simplifications on pourrait faire lors des essais sur divers produits : extraits de café, thé et surtout cafés décaféinés, verts et torréfiés, dont la comparaison des teneurs en caféine, grâce au calcul du bilan, nous semble particulièrement intéressant.

ANNEXE

Avant-projet

DOSAGE DE LA CAFÉINE DANS LES STIMULANTS

Méthode de référence
(Proposition française)

1. OBJET

Le présent avant-projet a pour objet de décrire une méthode de référence pour le dosage de la caféine dans les stimulants.

Domaine d'application

La méthode est applicable au café vert, au café torréfié, au thé, au café décaféiné, au thé décaféiné, aux mélanges de café et de succédanés, ainsi qu'aux extraits liquides et aux extraits solubles.

2. PRINCIPE

Pulvérisation, s'il y a lieu, de l'échantillon. Libération de la caféine en alcalinisant par l'hydroxyde d'ammonium. Extraction de la caféine par le chloroforme. Purification, en milieu aqueux, de l'extrait brut ainsi obtenu. Extraction par le chloroforme de la caféine purifiée. Pesée de la caféine extraite et contrôle, soit par dosage de l'azote total, soit par spectrophotométrie en ultra-violet.

3. APPAREILLAGE

Matériel courant de laboratoire, et notamment :

- 3.1 Broyeur de caractéristiques suivantes :
- facile à nettoyer et présentant un espace mort aussi faible que possible,
 - réglé en utilisant le produit à examiner pour obtenir des particules passant sans refus à tra-

vers un tamis de 315 μm d'ouverture de maille dans le cas des cafés et de 500 μm d'ouverture de maille dans le cas des thés.

- 3.2 Tamis de 315 μm d'ouverture de maille (dans le cas des cafés),

ou

- 3.3 Tamis de 500 μm d'ouverture de maille (dans le cas des thés).

- 3.4 Appareil à extraction continue solide-liquide, par exemple Soxhlet ou BBS.

- 3.5 Appareil à extraction liquide-liquide, par exemple ampoule à décanter ou, de préférence, perforateur pour solvants denses.

- 3.6 Etuve réglée à 103° C \pm 2° C.

- 3.7 Balance analytique.

- 3.8 Appareillage pour le dosage de l'azote total selon Kjeldahl,

ou

- 3.9 Spectrophotomètre U. V.

4. RÉACTIFS

- 4.1 Solution d'hydroxyde d'ammonium :
- | | |
|---|--------|
| hydroxyde d'ammonium ($\rho_{20} = 0,923 \text{ g/ml}$) | 1 vol. |
| eau..... | 2 vol. |
- 4.2 Chloroforme
- 4.3 Solution d'acide sulfurique :
- | | |
|---|-------------------|
| acide sulfurique ($\rho_{20} = 1,84 \text{ g/ml}$)..... | 5 vol. |
| eau..... | q. s. p. 100 vol. |
- 4.4 Solution de permanganate de potassium :
- | | |
|---|-----------------|
| permanganate de potassium KMnO_4 | 5 g |
| eau..... | q. s. p. 100 ml |

- 4.5 Solution de peroxyde d'hydrogène et d'acide acétique
 acide acétique..... 3 vol.
 peroxyde d'hydrogène à 12 vol... q. s. p. 100 vol.
- 4.6 Oxyde de magnésium OMg (Magnésie lourde).
- 4.7 Sable siliceux lavé et calciné, passant au tamis de ... et retenu au tamis de ... (à préciser).
- 4.8 Paraffine, point de fusion 50 à 56° C.

5. PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON POUR ANALYSE

5.1 Cas des cafés en grains ou en poudre grossière et des thés

Homogénéiser l'échantillon pour laboratoire. En pulvériser une quantité suffisante en vue des essais à effectuer.

Si, en raison d'une teneur en eau trop élevée de l'échantillon, le broyage est malaisé, il y a lieu soit de présécher la partie de l'échantillon à broyer en la plaçant dans l'étuve (3.6) jusqu'à siccité suffisante (environ 6 heures), soit d'effectuer le broyage à basse température en présence de dioxyde de carbone solide.

Tamiser sans refus l'échantillon pour analyse au tamis (3.2 cafés) ou (3.3 thés).

Homogénéiser l'échantillon pulvérisé et le conserver dans un récipient étanche jusqu'au moment de l'analyse.

Déterminer la teneur en matière sèche de l'échantillon ainsi préparé en appliquant la méthode normalisée correspondante ou, à défaut, en laissant par exemple une prise d'essai de 4 à 5 g pendant 6 heures dans l'étuve (3.6). Cette disposition concerne notamment le café vert pulvérisé.

5.2 Cas des produits solubles dans l'eau, ou liquides

Ces produits seront dissous ou éventuellement dilués de manière à permettre le prélèvement des prises d'essai prévues en 6.1.

6. MODE OPÉRATOIRE

6.1 Prises d'essai

Il est recommandé de choisir une prise d'essai renfermant une quantité de caféine comprise, de préférence, entre 10 et 100 mg.

Dans le cas du café vert, du café torréfié et du thé, peser, à 0,001 g près, 2 à 5 g d'échantillon. Dans le cas du café décaféiné, torréfié ou non, du thé décaféiné, ou des mélanges de café et de succédanés, une prise d'essai comprise entre 10 et 25 g convient généralement.

Dans le cas des produits préparés selon 5.2, choisir la prise d'essai en fonction de la teneur présumée en caféine.

6.2 Libération de la caféine

6.2.1 Cas des échantillons pulvérisés

Placer la prise d'essai dans un bécher de 250 ml. Verser goutte à goutte, par exemple au moyen d'une

burette, la solution d'hydroxyde d'ammonium (4.1) en mélangeant avec une baguette en verre. La poudre doit être humectée uniformément, sans former de grumeaux. Il convient généralement d'ajouter ainsi 1 ml de solution d'hydroxyde d'ammonium par gramme de prise d'essai. Toutefois, si les grains de poudre prennent un aspect nettement mouillé et tendent à s'agglomérer, cesser les affusions du mélange ammoniacal et poursuivre le brassage pendant quelques instants de manière à restituer au produit sa texture pulvérulente ; si ce résultat indispensable ne peut être ainsi obtenu, ajouter du sable (4.7) par fractions successives (10 à 20 g conviennent généralement) et continuer à mélanger jusqu'à obtention d'une texture pulvérulente ; cet incident est particulièrement fréquent avec les mélanges de café et de succédanés. L'addition de quelques décigrammes d'oxyde de magnésium (4.6) favorise l'obtention de la texture requise. Lorsque la texture pulvérulente est facilement rétablie, on peut ajouter prudemment le reliquat de la solution d'hydroxyde d'ammonium. Couvrir le bécher avec un verre de montre et laisser le mélange au repos pendant une heure au moins.

6.2.2 Cas des échantillons liquides

Dans le cas des produits liquides ou solubles, ajouter 5 ml de solution d'hydroxyde d'ammonium (4.1) par 100 ml de liquide.

6.3 Extraction de la caféine

6.3.1 Cas des échantillons pulvérisés

Après le temps de repos prescrit, mélanger à nouveau, transvaser la poudre dans l'appareil d'extraction (3.4). Si l'on utilise une cartouche en cellulose, il est recommandé d'opérer comme suit : entraîner la totalité de la poudre adhérant aux parois du bécher, en s'aidant de sable utilisé par petites portions, et l'introduire dans la cartouche contenant la prise d'essai, en évitant de trop tasser la poudre. Recouvrir avec une nappe de coton hydrophile dégraissé (on peut la fixer en glissant par exemple les bords entre la poudre et la paroi interne de la cartouche en s'aidant de la pointe d'un couteau ou en disposant quelques billes en verre sur le coton). Introduire la cartouche dans l'appareil à épuisement continu garni de chloroforme en quantité suffisante (4.2). Épuiser pendant quatre à cinq heures. Éliminer le chloroforme d'abord par distillation au bain-marie, et chasser les dernières traces de solvant par chauffage au bain-marie, du récipient ouvert. Laisser refroidir.

6.3.2 Cas des échantillons liquides

Introduire ce mélange alcalinisé dans l'appareil (3.5) garni de chloroforme et procéder à l'épuisement. Si l'on utilise un perforateur, épuiser pendant 8 heures, avec un chauffage modéré, pour éviter la formation d'une émulsion abondante et l'entraînement éventuel de liquide aqueux dans le ballon de l'appareil. Éliminer le chloroforme et poursuivre l'opération comme il est indiqué en 6.4.

6.4 Purification de la caféine

6.4.1 Verser alors dans le ballon 2 à 3 ml de solution d'acide sulfurique (4.3) et les répartir sur toute la surface du résidu en malaxant bien celui-ci avec l'extrémité d'une petite baguette en verre qu'on laissera dans le ballon. Ajouter 75 ml d'eau chaude, 1 à 2 g de paraffine (4.8) et porter à douce ébullition pendant 2 ou 3 minutes. Agiter avec la baguette en verre et détacher les parcelles de résidu pouvant rester adhérentes aux parois. Laisser refroidir spontanément et reposer plusieurs heures (une nuit). La paraffine remonte à la surface et après solidification elle retient les matières grasses et goudroneuses éventuellement extraites de la prise d'essai. Disposer au-dessus d'un béccher de 250 ml un entonnoir garni d'un filtre à filtration rapide de 110 à 155 mm de diamètre, mouillé. Y verser la solution aqueuse située sous la couche de paraffine. Laver à l'eau froide, à plusieurs reprises, le ballon et le filtre, ainsi que la paraffine.

6.4.2 Alcaliniser légèrement le filtrat par addition ménagée de solution d'hydroxyde d'ammonium (4.1) : la teinte du liquide vire ; vérifier l'alcalinité. Ajouter goutte à goutte, en agitant la solution de permanganate de potassium (4.4), jusqu'à obtention d'une coloration violette, persistant 15 minutes après la dernière addition. A ce moment, introduire dans le béccher, par affusions successives et en agitant, la solution de peroxyde d'hydrogène et d'acide acétique (4.5). Le dégagement gazeux provoque la formation d'une mousse plus ou moins abondante et le liquide brunit avec apparition d'un précipité floconneux. Porter alors le béccher sur un bain-marie bouillant et poursuivre goutte à goutte les additions de peroxyde d'hydrogène et d'acide acétique (4.5) dans le liquide tiède (30 à 40° C) jusqu'à décoloration presque complète du liquide. Le milieu doit alors être légèrement acide. Eviter d'introduire un excès de réactif. L'opération de décoloration doit durer 15 minutes au maximum.

Filtrer sur un filtre plat à filtration rapide ; laver à l'eau chaude et refroidir le liquide limpide souvent jaunâtre. L'épuiser par le chloroforme (4.2) dans l'appareil (3.5). Si l'on emploie un perforateur, épuiser pendant 4 heures. Si l'on emploie des ampoules à décanter, épuiser à six reprises par 25, 20, 15, 10, 10 et 10 ml de chloroforme (4.2). Réunir les solutions chloroformiques dans une seconde ampoule, les laver avec 2 ml d'eau distillée. Faire écouler la couche chloroformique dans un petit entonnoir dont la douille est garnie d'un très petit tampon de coton hydrophile dégraissé, mouillé de chloroforme, et disposé au-dessus d'un récipient taré. Prendre soin de ne pas mouiller le coton avec de l'eau. Laver l'ampoule, l'eau de rinçage et l'entonnoir avec 5 ml de chloroforme, utilisés en plusieurs fois.

6.5 Appréciation quantitative de la caféine

6.5.1 Détermination par pesée

Éliminer par distillation au bain-marie, soit dans le ballon de l'appareil à distillation préalablement taré,

soit de préférence dans un petit cristalliseur taré à 0,1 mg près, la plus grande partie du chloroforme et laisser l'évaporation s'achever lentement. Sécher 30 à 40 minutes dans l'étuve (3.6). Refroidir au dessiccateur et peser à 0,1 mg près.

Examiner le résidu et s'assurer qu'il présente l'aspect cristallin de la caféine. Si la caféine obtenue paraît insuffisamment pure (teinte jaune), il y a lieu de la repurifier. A cette fin, dissoudre la caféine dans 10 ml d'eau ; ajouter deux gouttes de solution d'hydroxyde d'ammonium (4.1) et deux ou trois gouttes de solution de permanganate de potassium (4.4), et poursuivre la purification comme il est dit en 6.4.2. Compléter le dosage gravimétrique soit en dosant l'azote total, soit par spectrophotométrie en U. V.

6.5.2 Détermination par dosage de l'azote total

Doser l'azote total par la méthode de Kjeldahl. A cette fin, transvaser quantitativement dans le matras la caféine précédemment pesée. Il est recommandé de la dissoudre et de l'entraîner au moyen de l'acide sulfurique nécessaire pour la minéralisation, utilisé en trois fois, puis de rincer avec un peu d'eau en prenant les précautions habituelles.

Si M est la masse d'azote total contenue dans la prise d'essai, la masse correspondante de caféine anhydre est $M \times 3,464$.

6.5.3 Détermination spectrophotométrique

6.5.3.1 Préparation de la solution de caféine à doser

Dissoudre dans une quantité d'eau convenable la caféine anhydre pesée précédemment (6.5.1), de façon à obtenir une solution contenant $1,00 \text{ mg} \pm 0,50 \text{ mg}$ de caféine pour 100 ml.

6.5.3.2 Préparation d'une solution témoin de caféine pure

Peser à 0,1 mg près, $100 \text{ mg} \pm 20 \text{ mg}$ de caféine pure anhydre. Les placer dans une fiole jaugée de 1 000 ml. Dissoudre avec de l'eau distillée et amener au volume. Prélever, avec une pipette jaugée, 10 ml de cette solution et les amener à 100 ml avec de l'eau distillée.

6.5.3.3 Mesures

Mesurer la densité optique de la solution (6.5.3.1), dans des cuves en quartz de 1,000 cm, au spectrophotomètre, à 250, 273 et 296 nm, en utilisant l'eau distillée comme blanc. Mesurer également à 250, 273 et 296 nm la densité optique de la solution témoin de caféine (6.5.3.2).

6.5.3.4 Expression des résultats

La teneur en caféine, en pour cent en masse, de la matière sèche de l'échantillon est égale à :

$$\frac{E' \times C \times D \times 100}{E \times P \times S}$$

où :

E' est la densité optique de la solution (6.5.3.1) avec correction de ligne de base

$$E' = e'_{273} - \frac{1}{2}(e'_{250} + e'_{296})$$

avec

e'_{273} : densité optique de la solution 6.5.3.1 mesurée à 273 nm

etc...

E est la densité optique de la solution témoin de caféine (6.5.3.2) avec correction de ligne de base.

$$E = e_{273} - \frac{1}{2}(e_{250} + e_{296})$$

avec

e_{273} : densité optique de la solution 6.5.3.2 mesurée à 273 nm

etc...

C est la concentration en caféine de la solution témoin 6.5.3.2 en g/ml.

D est la dilution de la solution 6.5.3.1.

P est la prise d'essai en grammes de l'échantillon pour analyse.

S est la teneur en matière sèche, en pour cent en masse, de l'échantillon.

BIBLIOGRAPHIE

1. WILLEMS (J. J. L.). — Second colloque international sur la chimie des cafés verts, torréfiés et leurs dérivés. I. F. C. C., Paris (1966).
2. POWER, CHESTNUT. — A. O. A. C., 14019, p. 216, Washington (1965).
3. LEVINE (J.). — J. A. O. A. C., 45, 254-255 (1962).
4. HADORN (H.), ZURCHER (K.). — Mitt. Gebeite Lebensm. Hyg., 55, 379-405 (1964), d'après Willems (réf. 1).
5. KOGAN (L.), DI CARLO (F. J.), MAYNARD (W. E.). — Anal. Chem., 25, 1118-1120 (1953).
6. BAILEY ANDREW. — A. O. A. C. n° 14047, p. 219 (1965).
7. BOWER (R. S.), ANDERSON (A. D.), TITUS (H. W.). — Anal. Chem., 22, 1056-1058 (1950).
8. SMITH (R. F.), REES (D. C.). — Analyst, 88, 310-313 (1963).
9. GOBERT (S.). — Ann. fals. fraudes, 29, 417-428 (1936).
10. KUM-TATT (Lee). — Analyst, 86, 825-828 (1961).
11. BORKER (E.), SLOMAN (K.). — J. A. O. A. C., 48, 705-709 (1965).
12. NAVELLIER (P.), BRUNIN (R.). — 3^e Colloque sur la chimie des cafés, A. S. I. C., Paris (1968), p. 264-268.
13. BARBERA (C. E.). — Z. Lebensm. Untersuch. Forsch., 117, 483-487 (1962).
14. WEEVER (P. L. de). — 14^e druk, dl. II, Tjeenk Wilink, p. 90, d'après Willems (réf. 1).
15. MANUEL SUISSE. — Schweizerisches Lebensmittelbuch, 4. Aufl. Bern, Druck und Verlag von Zimmerman et C^{ie}, A. G., p. 231-232 (1937).
16. SMITH (R. F.), REES (D. C.). — Communication non publiée.
17. ADDA (J.). — C. R. 10^e Congrès des Industries Agricoles, Madrid (1954), 1, 144-148.
18. DE GRUYTER (P.). — De Gruyter & Zoon (N. V.) 's-Hertogenbosch (Communication privée) d'après Willems (réf. 1).
19. PRANGE (G.), WALTHER (H.). — Z. Lebensm. Untersuch. Forsch., 104, 261-266 (1956), d'après Willems (réf. 1).
20. VITZTHUM (O. G.). — 3^e Colloque sur la chimie des cafés, A. S. I. C., Paris (1968), p. 216-222.
21. PUTZE (F.). — Mitteilungsblatt Lebensm. und gerichtliche Chemie, 12, 49-51 (1958) d'après Vitzthum (réf. 20).
22. PFANDL (K.). — Deutsche Apotheker Zeitung, 99, 141-143 (1959) d'après Vitzthum (réf. 20).
23. HASE (K.). — Mitteilungsblatt Lebensm. und gerichtliche Chemie, 14, 218 (1910) d'après Vitzthum (réf. 20).
24. HORBASZEWSKI (A.). — Przemyl Sporywezy, 12, 316 (1958) d'après Vitzthum (réf. 20).
25. KOTIDI (E. P.). — Konserv. Ovashchesshil. Brom., 13, 41-42, d'après Vitzthum (réf. 20).
26. WACHSMUTH (H.), VAN KOECKHOVEN (L.). — J. Pharm. Belgique, 14, 79-81 (1959).
27. HADORN (H.), SUTER (H.). — Mitt. Lebensm. Hyg., 48, 63-79 (1957).
28. GIRANNI (G.), GIULIANO (R.), ZIFFERERO (M.). — Annali di Chimica, Roma, 6, 646-648 (1957).
29. CALZOLARI (C.), FAVRETTO GABRIELLI (L.). — 3^e Colloque sur la chimie des cafés, A. S. I. C., Paris, 257-263 (1968).
30. FAZZINA (T.), WITNEY (J. E.) et FERRY (S.). — 4^e Colloque sur la chimie des cafés, A. S. I. C., Paris, p. 97-102 (1970).
31. BORKER (E.), YERANSIAN (J. A.). — J. A. O. A. C., 40, 346-350 (1957).
32. BORKER (E.). — J. A. O. A. C., 42, 299-300 (1959).
33. BORKER (E.). — J. A. O. A. C., 43, 620-622 (1960).
34. BORKER (E.). — J. A. O. A. C., 46, 319-320 (1963).
35. NAVELLIER (P.), BRUNIN (R.). — Café, Cacao, Thé, 6, 47-54 (1962).
36. NAVELLIER (P.), BRUNIN (R.). — Café, Cacao, Thé, 5, 172-178 (1961).

NAVELLIER (P.), BRUNIN (R.), DALGER (G.). — **Remarques sur le dosage de la caféine.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 149-159, tabl., réf.

Au second colloque, WILLEMS a montré la nécessité d'harmoniser les dosages de caféine, et le choix d'une méthode de référence a été envisagé. L'I. S. O. a décidé également d'étudier ce problème, et de le faire en liaison avec l'A. S. I. C. Un comité d'étude constitué en France apporte sa contribution en formulant les remarques suivantes :

1) Une méthode de référence est destinée à l'étalonnage des méthodes pratiques. L'exactitude des résultats est plus importante que la simplification des manipulations.

2) La méthode dite « du Laboratoire Municipal de Paris », présentée au 3^e colloque, peut servir de point de départ pour cette étude, et diverses améliorations ont été suggérées par le Comité.

3) La teneur en caféine d'un échantillon de café ne pouvant être connue que par l'analyse, les critères suivants sont proposés pour apprécier la validité des méthodes :

- la reproductibilité des résultats,
- l'obtention des résultats les plus élevés, à condition que la pureté de la caféine extraite soit contrôlée,
- le calcul du bilan de torréfaction est utile pour contrôler la validité d'une méthode, surtout dans le cas des cafés décaféinés.

NAVELLIER (P.), BRUNIN (R.), DALGER (G.). — **Remarks on the assay of caffeine.** Quatrième Colloque international sur la Chimie des cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam 2-6 juin 1969, A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 149-159, tabl., réf.

At the 2nd colloquium, WILLEMS has shown the necessity to harmonise the assays of caffeine and the choice of a reference method has been contemplated. I. S. O. has also decided to investigate the problem and to do so in association with A. S. I. C. A working committee set up in France brings its contribution in formulating the following remarks :

1) A reference methods is destined to the standardisation of practical methods. The accuracy of the results is more important than the simplification of the manipulations.

2) The method known as that of the « Laboratoire Municipal de Paris » (Method of the Municipal Laboratory of Paris) presented to the 3rd colloquium may serve as a starting point for this investigation and various improvements have been suggested by the committee.

3) As the caffeine content of a sample of coffee may only be ascertained by analysis, the following criteria are proposed in order to appreciate the validity of the methods :

- Reproducibility of results.
- The achievement of the highest results on condition that the purity of the extracted caffeine be checked.
- The roasting balance calculation is useful in order to control the validity of a method, especially in cases of decaffeinated coffees.

NAVELLIER (P.), BRUNIN (R.), DALGER (G.). — **Bemerkungen zur Bestimmung des Coffeins.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 149-159, tabl., réf.

Beim zweiten Kolloquium wies Willems auf die Notwendigkeit einer Harmonisierung der Coffeinbestimmungen und die Wahl einer Referenzmethode wurde in Betracht gezogen. ISO beschloss ebenfalls dieses Problem einer Prüfung zu unterziehen und zwar in Verbindung mit der ASIC. Ein in Frankreich gebildeter Studienausschuss leistete seinen Beitrag durch Formulierung folgender Bemerkungen :

1) Eine Referenzmethode ist zur Eichung der praktischen Methoden bestimmt. Die Genauigkeit der Resultate ist wichtiger als die Vereinfachung der Handhabungen.

2) Die sogenannte Methode des « städtischen Laboratoriums von Paris » die beim 3. Kolloquium vorgeführt wurde kann als Ausgangspunkt für die Untersuchung dienen und verschiedene Verbesserungen wurden vom Ausschuss angeregt.

3) Da der Coffeingehalt eines Kaffeemusters nur durch die Analyse festgestellt werden kann, werden folgende Unterscheidungsmerkmale zur Einschätzung der Gültigkeit der Methoden vorgeschlagen :

- die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse,
- die Erzielung von Höchstergebnissen, vorausgesetzt dass die Reinheit des extrahierten Coffeins nachgeprüft wird,
- die Berechnung der Röstungsbilanz ist für die Kontrolle der Gültigkeit einer Methode von Nutzen besonders bei entcaffeinieren Kaffees.

DISCUSSION

M. SMITH : I am surprised to see that the results obtained for decaffeinated coffee by determination of nitrogen are lower than those obtained by the spectrophotometric method. The reverse is more normal because of non-caffeine nitrogen compounds that are normally included in the determination of N.

M. NAVELLIER : C'est exact, nous avons eu quelquefois des chiffres un peu plus élevés dans le cas de dosages d'azote, mais la purification était alors insuffisante. C'est le problème de la purification de l'extrait ; comme nous cherchons à avoir une caféine très pure, nous nous heurtons à deux difficultés : ou bien avoir une surcharge qui, comme vous venez de l'indiquer, va fausser les résultats, ou bien tellement purifier qu'une partie de la caféine sera perdue.

Je n'ai pas eu le temps d'exposer les essais qui ont été effectués, mais je puis les résumer : en mettant de la caféine avec du sable et en faisant toute l'analyse comme s'il s'agissait d'un café, on trouve par exemple, pour un des trois essais réalisés dans le laboratoire de M. Wilboux :

- point de départ de la caféine..... 107,75
- extrait brut (caféine simplement extraite par le chloroforme)..... 113,08

Des essais complémentaires ont montré que c'était les impuretés de la cartouche de cellulose qui apportaient une surcharge.

En appliquant toute la méthode jusqu'à la pesée finale, on arrive au résultat de 103,29. Un peu plus de 4 p. 100 de la caféine ont été perdus au cours de toutes les opérations. Ceci provient peut-être d'une purification trop poussée.

Une autre série d'essais avait consisté à mettre la caféine dans une solution et à extraire au perforateur, de façon à voir si cette technique (épuisement liquide-liquide par le chloroforme) conduisait à des pertes. On avait au départ 108,56 mg ; après épuisement au perforateur, on avait au bout d'une heure : 107 ; au bout de 2 h, nouvelle perte de 1 mg ; entre 2 et 3 h, on a retiré 0,8 mg ; entre 3 et 4 h : 0,- ; entre 4 et 5 h : 0.

Ceci confirme que l'épuisement au perforateur n'amène pas de pertes.

La grande difficulté réside dans le fait qu'il faut avoir toute la caféine et rien que la caféine.

Mais la remarque de M. Smith est parfaitement exacte : quand la purification est insuffisante, ou bien on trouve beaucoup moins de caféine par dosage d'azote parce que la surcharge n'est pas azotée (par exemple des glucides ou des lipides), ou bien il y a surcharge en matières azotées (probablement en aminoacides) et le chiffre d'azote est un peu supérieur.

Je ferai même une autre remarque : nous avons des raisons de penser, quand on travaille sur des caféines de cafés décaféinés, que la technique de décaféination utilisée par l'industriel a une répercussion sur les impuretés entraînées avec la caféine, et cela se conçoit assez bien. Donc une méthode comme celle que nous utilisons, et qui marchait très bien, avec des cafés décaféinés au trichloréthylène, donne des résultats moins satisfaisants avec les cafés décaféinés au chlorure de méthylène.

M. VITZTHUM : Haben Sie durch die $KMnO_4$ -Behandlung bei der Coffeinbestimmung in coffeinfreiem Kaffee eine teilweise Zerstörung des Coffeins festgestellt ?

M. NAVELLIER : Nous avons un certain nombre de résultats à ce sujet. Il n'y a pas de modifications quand on travaille sur la caféine pure, mais quand on a un extrait de café dans lequel il y a des surcharges dont on ne connaît pas bien la nature, on constate une diminution de l'extrait et il n'est pas possible d'affirmer que la caféine n'est pas atteinte.

Nous avons néanmoins constaté que, si on fait une seule oxydation permanganique, on a, dans le cas des cafés décaféinés, des extraits trop lourds. Mais si on fait une deuxième purification au permanganate, on a des chiffres qui se rapprochent beaucoup de ceux qu'on obtient par le dosage d'azote.

Le permanganate agit en milieu alcalin et dans les conditions décrites dans la méthode.



WASSERBESTIMMUNG IN KAFFEE – EXTRAKT

Resultate eines Ringversuchs mit verschiedenen Methoden

U. HAEVECKER

Deutscher Normenausschuss, DNA, Berlin

Die Bestimmung von Wasser in Kaffee-Extraktpulvern ist ein analytisches Problem, das bisher nicht genügend durchgearbeitet war. Wenn auch die klassische Trockenschrank-Methode im Routine-Betrieb zunächst befriedigend erschien, erwies sich die Reproduzierbarkeit häufig als ungenügend, besonders im Fall von Schiedsanalysen. Um die Methodik verlässlicher zu machen, wurde vom Arbeitsausschuss « Kaffee » im Deutschen Normenausschuss eine Ringanalyse angeregt. Eine grössere Anzahl der massgeblichen deutschen Kaffee-

Experten und Laboratorien beteiligte sich an den umfangreichen Versuchen. Die Ergebnisse wurden in Berlin beim Deutschen Normenausschuss zusammengefasst und ausgewertet. Sie werden demnächst als Basis für die Veröffentlichung einer nationalen Deutschen Norm dienen. Ebenso werden sie in die Arbeit der Internationalen Standardisierungs-Organisation ISO eingebracht werden, wo Deutschland im TC 34/SC 8/WG 2 « Coffee » vertreten ist.

METHODEN

Der Ringversuch wurde an verschiedenen repräsentativen Proben von Kaffee-Extrakt durchgeführt, die zentral an alle Teilnehmer verschickt wurden, so dass alle Laboratorien von identischem Ausgangsmaterial ausgingen. Alle Proben wurden nach möglichst genau festgelegten Arbeitsvorschriften mittels dreier Methoden untersucht :

Vakuum-Trockenschrank. Arbeitsbedingungen : 70° C, 100 torr, 16 std, trockene Spülluft von 1 Blase/sec.

Karl-Fischer-Titration. Titration mit Dead-Stop-Anzeige des Endpunkts, Karl-Fischer-Lösung gegen schwach wasserhaltiges Methanol eingestellt.

Gaschromatographische Bestimmung. Herausdistillation des Wassers aus der Probe mit Dioxan nach WALDMANN, 1 m Stahlsäule 1/8 Zoll, Polypak-Füllung, Temperatur 155° C, 35 ml/min He, Wärmeleitfähigkeits-Detektor.

STÖRANFÄLLIGKEIT

Die drei ausgewählten Methoden wurden nach der eigentlichen, strengen Durchführung ausserdem bewusst

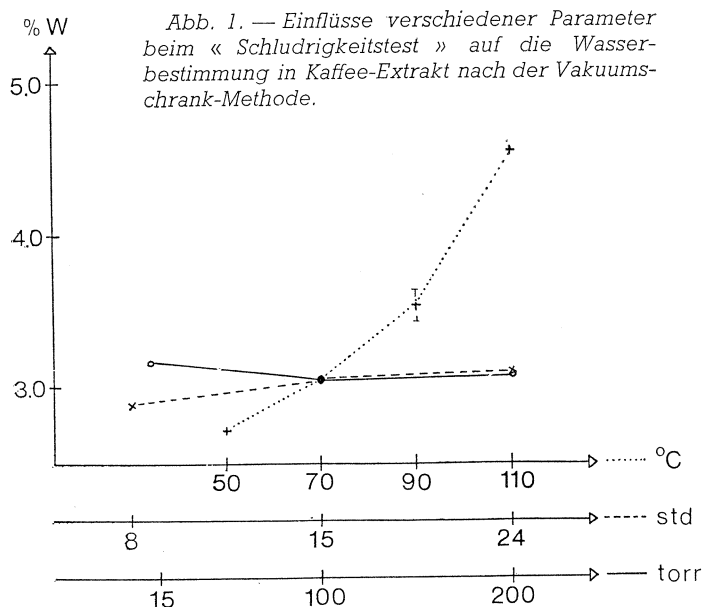
* *Vorbemerkung* : Diese Arbeit wurde nur durch die uneigennützig, freiwillige und ehrenamtliche Mitarbeit eines Grossteils der deutschen Kaffee-Experten und -Laboratorien ermöglicht, die am Ringversuch teilnahmen. Ihnen allen sei herzlich gedankt.

variiert, um ein Bild ihrer Störanfälligkeit zu erhalten. Bei dem zunehmenden Einsatz von Hilfspersonal ist dies ein ernstes Problem ; meist sind akademisch geschulte Analytiker heute kaum selbst noch im Labor, sondern müssen sich auf Assistenten und Laboranten verlassen. Wir haben also das durchgeführt, was im US-Schrifttum als « ruggedness test » bezeichnet wird, wofür wir das illustrative deutsche Wort « Schludrigkeitstest » einsetzten.

Vakuumentrocknung

Variiert wurden Trocknungstemperatur, Trocknungsdauer und Vakuum. Wie Bild 1 zeigt, ist die Methode gegen Schwankungen in der Trockenzeit und im Vakuum recht unempfindlich. Erhöhtes Vakuum liefert leicht überhöhte Ergebnisse durch Absaugung einiger sonst noch nicht flüchtiger Substanzen und kürzere Zeit erbringt keine vollständige Trocknung. Dies war zu erwarten, die Abweichungen sind jedoch nicht erheblich. Für einen Laborleiter wird die wichtigste Folgerung sein: Der Druck muss seiner Grössenordnung nach stimmen, wobei ein kleiner Druckabfall der Pumpleitung nichts schadet, und die Bestimmung muss über Nacht laufen, wobei der genaue Zeitpunkt von Einwaage am Nachmittag und Rückwaage am Morgen nicht auf die Minute genau abgepasst zu werden braucht.

Bei der Trocknungstemperatur ist jedoch das genaue Einhalten von 70° C erforderlich. Schon kleine Abweichungen verändern den Wert erheblich, besonders bei Temperatur-Überschreitungen (vgl. Abb. 1). In der in Vorbereitung befindlichen Deutschen Norm wird daher eine Toleranz von 70° ± 2° C maximal vorgeschlagen sein, wobei diese am Ort der Trocknung zu verstehen ist. Wegen der bekannten Ungenauigkeit der Wärme-



schränk-Thermometer und des Temperatur-Gradienten im Schrank muss daher eine Justierung der Apparatur (z. B. mit einem Thermoelement auf dem Trockenrost) gefordert werden.

Ein anderes Laboratorium prüfte, ob ein wiederholtes Abkühlen auf 50° C, so wie es bei häufigem Öffnen der Tür des Trockenschanks auftritt, das Ergebnis beeinflusst. Es zeigte sich, dass dies nicht der Fall ist, solange dabei nur der Luftraum und nicht die Schalen kühler werden.

Karl-Fischer-Titration

Folgende Ergebnisse wurden für die Störanfälligkeit erhalten:

- Die Analyse wird genauer, wenn der Kaffee vorher 10 min im Methanol steht.
- In der KF-Lösung dürfen sich keine Luftblasen befinden, auch nicht die kleinsten.
- Die Titriergesäße werden zweckmässigerweise im Trockenschrank aufbewahrt und 30 min vor dem Einwiegen des Kaffees in einen Exsikkator gestellt.
- Der Faktor und der Blindwert müssen jeden Tag neu bestimmt werden, gleiches gilt beim Anbrechen einer frischen Flasche Methanol.
- Der Luftraum um den Titrierkopf muss auch bei Nichtgebrauch stets trocken gehalten werden, am besten mittels eines Ersatz-Titriergesäßes mit überschüssiger KF-Lösung.
- Bei nicht regelmässiger Benutzung sollten die Verbindungsleitungen mit frischen Lösungsanteilen gespült werden.
- Neueinstellung des Nullpunktes nach jeder Probe ist erforderlich.
- Das gleiche Titriergesäß kann in einer Probenserie fortlaufend benutzt werden.

Gas-Chromatographie

Die Ergebnisse blieben im Rahmen der Genauigkeit der Methode unverändert, auch wenn:

- bei einmal eingestelltem GC das Bedienungspersonal wechselte,
- mehr Dioxan überdestilliert wurde,
- die Säulentemperatur um 15° C gesenkt wurde,
- eine dichter gepackte Säule verwandt wurde, wobei Druck und Strömungsgeschwindigkeit des Trägergases erhöht werden mussten.

ERGEBNISSE UND AUSWERTUNG

Als Prüfgut dienten

Sprühgetrockneter Kaffee-Extrakt, ohne Aromazusatz
— — — — — mit — — — — —

Gefriergetrockneter Kaffee-Extrakt, mit Aromazusatz.

An den Ringversuchen beteiligten sich bis zu sechs Laboratorien, pro Prüfgut lagen etwa 200 Analysenda-

ten und mehr vor. Für jede einzelne Methode waren bei jedem Prüfgut mindestens 50 Ergebnisse verfügbar. Diese wurden gesammelt und einer statistischen Auswertung unterworfen.

Zunächst wurde nach YOUNG (1) für den Vergleich der Vakuumentrocknung und der Karl-Fischer-Titration

eine Zwei-Proben-Kontrollgraphik angelegt, die halbquantitativ die Anwesenheit sowohl von Zufallsfehlern wie von systematischen Fehlern (2) abzuschätzen gestattet (vgl. Abb. 2). Eine Häufung von längeren Lotrechten zur 45°-Linie würde Zufallsfehler anzeigen, Punkte auf der 45°-Linie weit vom Durchschnitts-Mittelpunkt wären für systematische Fehler verantwortlich. Die Graphik zeigt, dass beide Arten von Fehlern nicht wesentlich auftreten, die « cluster » (Punktgruppen) liegen für beide Methoden eng beieinander, bis auf einen rechnerisch ausscheidbaren Messpunkt [GRAF und HENNING, nach (3)]. Für die GC-Methode waren nicht genügend Zwei-Proben-Paare zur Herstellung der Graphik verfügbar, die vorhandenen Werte liegen jedoch innerhalb des Karl-Fischer-Clusters.

Danach wurden die Standardabweichungen s berechnet. Diese wurden in bekannter Weise (3) überprüft:

Paarweiser Vergleich der Standardabweichungen (F-Prüfung),

Vergleich aller Standardabweichungen (χ^2 -Prüfung),

Vergleich der Mittelwerte (t-Prüfung),

Varianzanalyse.

Diese Überprüfung zeigte, dass alle gewonnenen Standardabweichungen an einem Prüfgut und auch bei den verschiedenen Prüfgütern homogen sind, ihre Werte liegen also innerhalb der durch den Zufallsfehler gezogenen Grenzen. Da die Vergleichbarkeit von s nicht gegenteilig bewiesen ist, wird hier auf die langen Zahlenrechnungen mit Varianzen, etc. verzichtet und die Ergebnisse nur mittels der Standardabweichung s dargestellt.

An sprühgetrocknetem Kaffee ohne Aromazusatz soll dies ausführlich erläutert werden (vgl. Tab. 1): In den

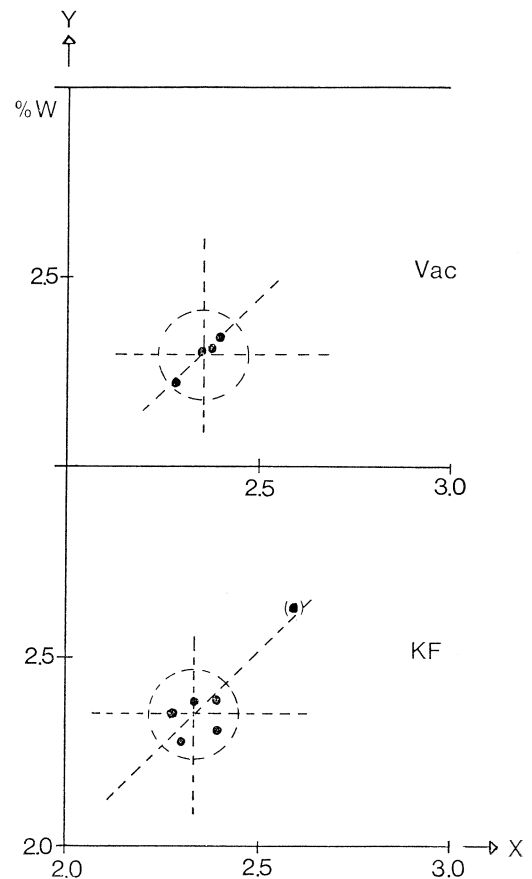


Abb. 2. — Zwei-Proben-Kontrollgraphik zur Überprüfung der am Ringversuch beteiligten Laboratorien.

TABELLE 1

Standardabweichungen aus dem Ringversuch über die Wasserbestimmung in sprühgetrocknetem Kaffee-Extrakt ohne Aromazusatz

n = Anzahl der Bestimmungen der einzelnen Laboratorien. $s_w(P)$ = Wiederhol-Streubereich.
 $s_v(P)$ = Vergleichs-Streubereich. P = Wahrscheinlichkeit

	n	$s_w(P_{68.3})$	$s_v(P_{68.3})$	Einzelbestimmungen		Doppelbestimmungen	Anzahl der nötigen Parallelbestimmungen bei P_{99} für $s_v = \pm 0,2$ $s_v = \pm 0,05$	
				$s_v(P_{95})$	$s_v(P_{99})$	$s_v(P_{95})$		
Vac	20	$\pm 0,10$	$\pm 0,12$	$\pm 0,23$	$\pm 0,31$	$\pm 0,17$	4,0	8,0
	10	$\pm 0,04$						
	10	$\pm 0,06$						
	20	$\pm 0,15$						
KF	7	$\pm 0,07$	$\pm 0,14$	$\pm 0,27$	$\pm 0,36$	$\pm 0,20$	4,2	8,7
	14	$\pm 0,08$						
	16	$\pm 0,04$						
	18	$\pm 0,05$						
	20	$\pm 0,11$						
	19	$\pm 0,07$						
GC	8	$\pm 0,10$	$\pm 0,10$	$\pm 0,20$	$\pm 0,26$	$\pm 0,14$	3,6	7,3
	40	$\pm 0,06$						

ersten Kolonnen sind die s_w der einzelnen Laboratorien (Wiederholstreibereich, \sim repeatability) und die Anzahl ihrer Analysendaten n eingetragen. Daraus wird s_v errechnet (Vergleichstreibereich, \sim reproducibility). s_v ist das Mass für den Vertrauensbereich eines Einzelwertes mit 68,3 % statistischer Sicherheit ; d. h. : Bei dem hier vorliegenden Messbereich von etwa 2 % Wasser sind statistisch zwei von drei Messwerten zwischen 1,9 und 2,1 sicher, jeder dritte ist unsicherer. Diese Integrationsgrenzen sind natürlich viel zu weitgespannt um brauchbar zu sein, üblicherweise setzt man :

95 % statistische Sicherheit (P_{95}) für Routineanalysen
99 % — — — (P_{99}) für Schiedsanalysen

Für Einzelwerte sind die entsprechenden Vertrauensbereiche in den nächsten beiden Kolonnen der Tabelle aufgeführt, sowie der für die « klassische » Doppelbestimmung bei P_{95} .

Es zeigt sich hierbei ganz deutlich, dass Doppelbestimmungen mit P_{95} in mehreren Laboratorien am gleichen Prüfgegenstand nicht verlässlicher als von 1,8 bis 2,2 % Wasser sein können — von P_{99} ganz abgesehen. Ähnliche für die analytische Praxis erschreckende Zahlen fangen an, in allen Gebieten der Lebensmittelchemie Aufsehen zu erregen — eine übereinstimmende Doppel-

bestimmung zeigt eben nicht mehr an, als dass der Analytiker beide Male gleich gut oder gleich fehlerhaft arbeitete — bei statistischer Überprüfung sind die altgewohnten « Erfahrungsgrenzen » in vielen Gebieten der Analyse nur noch schöne Illusion.

Wie kann man nun eine verlässlichere Aussage treffen ? Eine Möglichkeit ist in den letzten beiden Kolonnen der Tabelle gezeigt : Anstatt wenige Bestimmungen zu machen und dann einen grossen Fehler in Kauf nehmen zu müssen (Probenzahl, Fehler erster Ordnung und Fehler zweiter Ordnung sind rechnerisch miteinander verknüpft), sollte vielmehr der Vertrauensbereich des zu gewinnenden Ergebnisses vorgegeben und daraus errechnet werden, wie viele Bestimmungen nötig sind. Auf die Beispiele der Tabelle bezogen, heisst das : Mehrere Laboratorien müssen, wenn sie Wasser in Kaffee-Extrakt auf $\pm 0,2$ % abs. mit 99 % Vertrauensbereich übereinstimmend ermitteln wollen, durchschnittlich Vierfachbestimmungen vornehmen. Auf 0,1 % genau (z. B. 2,0 % Wasser verlässlich zwischen 1,95 und 2,05 %) sind Achtfachbestimmungen zu fordern.

Das Bild wird allerdings günstiger, wenn entweder die Laboratorien sich laufend statistisch selbst überwachen (z. B. mit Kontrollkarten) oder der Wiederholstreibereich s_w niedrig liegt.

TABELLE 2

Wassergehalte und Standardabweichungen

Gew.-% Wasser	Kaffee-Extrakt		
	Sprühgetrocknet ohne Aromazusatz	Sprühgetrocknet mit Aromazusatz	Gefriergetrocknet mit Aromazusatz
Wassergehalt			
Vac	2,3	2,35	2,0
KF	2,4	2,4	2,05
GC	2,3	2,25	1,95
Standard- abweichung, entsprechend $s_v(P_{68.3})$			
Vac	$\pm 0,12$	$\pm 0,09$	$\pm 0,11$
KF	$\pm 0,14$	$\pm 0,14$	$\pm 0,09$
GC	$\pm 0,10$	$\pm 0,10$	$\pm 0,13$

SCHLUSSFOLGERUNGEN

Wie auch Tabelle 2 zeigt, sind die Standardabweichungen aller Verfahren bei allen Produktgruppen homogen.

Die Vakuumtrockenschrank- und die Karl-Fischer-Methode werden in Deutschen Normenwerk als Routinemethoden vorgeschlagen werden, die GC-Methode als Referenzmethode. Die Analysenzahlen allein rechtfertigen diese Unterscheidung nicht, sie sind gleich verlässlich. Die Entscheidung wurde getroffen, weil nach

der GC-Methode als einziger echt « Wasser » bestimmt wird, und nicht « bei 103° C flüchtige Stoffe », etc. (4).

Darüber hinaus wird in den Normblättern s_v und s_w eingearbeitet werden, was ein Novum in der lebensmittelchemischen Normung darstellt. Dieses Novum sollte begrüsst werden, damit endlich die erwünschte Verlässlichkeit die Anzahl der Bestimmungen determiniert und nicht umgekehrt.

LITERATUR

- (1) YOUNG (W. J.). — Statistical Techniques for Collaborative Tests. Washington 1967.
 (2) DIN 51 849. — Prüffehler und Toleranz.
 (3) DOERFFEL (K.). — Beurteilung von Analysenver-

- fahren und -ergebnissen. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1965.
 (4) DIN 10 764 BLATT 4. — Untersuchung von Kaffee und Kaffee-Erzeugnissen, Bestimmung des Feuchtegehalts in Kaffee-Extrakt (Vakuumschrank-Methode).

HAEVECKER (U.). — **Détermination de la teneur en eau d'extraits de café.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 160-164, fig., tabl., réf.

Trois méthodes de détermination de la teneur en eau (séchage à l'étuve sous-vide, titration selon Karl Fischer, détermination par chromatographie en phase gazeuse) ont été appliquées à différentes sortes d'extraits de café en poudre au cours d'une chaîne d'analyses. Cette étude a été suscitée par l'Organisation Allemande de Standardisation (DNA) dans le but d'obtenir des méthodes analytiques standardisées.

Pour des teneurs moyennes en eau de 2 p. 100 la déviation standard variait entre $\pm 0,1$ et $\pm 0,15$ p. 100 d'eau (abs.) avec les trois méthodes analytiques. Il en découle que l'obtention d'une moyenne satisfaisante avec P_{99} à $\pm 0,05$ p. 100 d'eau à l'intérieur d'un même laboratoire (répétabilité) nécessitera quatre déterminations. Pour comparer de façon aussi satisfaisante les moyennes de plusieurs laboratoires (reproductibilité), huit déterminations seront nécessaires.

HAEVECKER (U.). — **Determination of water content of coffee extract.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 160-164, fig., tabl., réf.

Three different methods for determination of water content in different kinds of instant coffee (vacuum oven method, Karl-Fischer-titration, gas-chromatographic method) were tested in a collaborative study. This study was initiated by the German Standards Organization (DNA) in order to obtain standardized analytical methods.

The samples contained circa 2% water. The standard deviation was found to vary between $\pm 0,1$ and $\pm 0,15\%$ water (abs.) for the three analytical methods. Therefrom it was calculated: If the accuracy of a determination be stipulated with P_{99} for $\pm 0,05\%$ water, one laboratory needs four determinations for each of its own mean values (repeatability). To compare the means obtained by several laboratories (reproducibility), eight determinations each are necessary for the same degree of accuracy.

HAEVECKER (U.). — **Wasserbestimmung in Kaffee-Extrakt.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 160-164, fig., tabl., réf.

Drei Methoden der Wasserbestimmung (Vakuumentrocknung, Karl-Fischer-Titration, Gaschromatographische Bestimmung) wurden in einem Ringversuch an verschiedenen Arten von Kaffee-Extraktpulvern erprobt. Die Studie wurde zum Zweck der Standardisierung verlässlicher Analysenverfahren vom Deutschen Normenausschuss angeregt.

Bei durchschnittlichen Wassergehalten von 2% in den Proben wurde die Standardabweichung bei den drei Verfahren zu $\pm 0,1$ bis $\pm 0,15\%$ Wasser (abs.) bestimmt. Danach muss für einen mit P_{99} auf $\pm 0,05\%$ Wasser verlässlichen Mittelwert innerhalb eines Laboratoriums (Wiederholstrebereich) eine Vierfachbestimmung gefordert werden. Zum Vergleich der Mittelwerte mehrerer Laboratorien (Vergleichsstrebereich) sind bei gleicher Verlässlichkeit je acht Bestimmungen nötig.

DISCUSSION

M. WILBAUX : *Travaillant sur des cafés solubles lyophilisés, nous avons constaté des reprises d'eau dans l'étuve sous vide (à l'aide d'une trompe à eau) si l'on ne prenait pas la précaution d'y placer de l'anhydride phosphorique. Avez-vous remarqué les mêmes inconvénients ?*

M. HAEVECKER : *Es wurden grundsätzlich frisch geöffnete Proben, die bis zum Rand voll waren, benutzt. Es war ausser dem normalen Schüttzwischenraum kein sogenannter Headspace oder kein Kopfraum vorhanden. Die Proben lagen, wie ich im Referat andeutete, alle bei 2 % Wassergehalt, so dass Ihre Probleme von besonders trockenen Instantkaffees hierbei nicht auftraten.*

M. SIMON : *Les participants à la chaîne d'analyse disposaient-ils tous du même matériel analytique (appareils) ? Et la dispersion enregistrée ne pourrait-elle provenir de différences dans ce matériel ?*

M. HAEVECKER : *Das muss ich verneinen ; die Proben sind zentral versandt worden und innerhalb weniger Tage analysiert worden, sodass ein homogenes Untersuchungsmaterial vorlag.*

Die gaschromatographischen Daten waren gleich. Andererseits, was die trockenen Glasgefässe betrifft, Durchmesser und Höhe z. B. waren vorgeschrieben, aber ob jemand ein Durexglas oder ein Pyrexglas genommen hat, das lag im Rahmen der üblichen Laboratoriumsausrüstung. Die einzelnen Werte streuen ja gar nicht so sehr, nur die Statistik zeigt uns erst, dass sie doch nicht so verlässlich sind wie man immer annimmt.

M. CLARKE : *As the moisture content of instant coffee is known to be very sensitive to changes of relative humidity, I am wondering what precautions were taken to keep this constant, during determination and despatch of samples, or whether these changes are part of the standard error shown in the results.*

M. HAEVECKER : *Im Vorschlag zum deutschen Normblatt wird die Normatmosphäre 20° C und 65 % relative Luftfeuchtigkeit, wie sie so auch in grundlegenden Normen der ISO vorgeschlagen ist, ebenfalls aufgenommen werden. Bei der eigentlichen Probendurchführung waren die Proben von der Öffnung, sie waren versiegelt, nie länger als bis zur Manipulation der Einwaage mit der Luft in Berührung.*

INTRODUCTION A LA TROISIÈME COMMISSION

O. F. KADEN

Forschungslabor für Kaffee, Kakao, Tee, Hamburg

Herr Präsident, sehr verehrte Damen und Herren !

Der Stoff der Referate der III. Kommission, der hier heute behandelt wird, erstreckt sich vornehmlich auf die unmittelbare Qualitätsverbesserung von Kaffee. Dabei sind zwei Kapitel besonders wichtig, das Aufbereiten des Kaffees in den Ursprungsländern und das Rösten in den Verbrauchsländern. Beide Kapitel ergänzen sich und sind praktisch und wissenschaftlich voneinander abhängig ; denn ein Röster, und mag er noch so gut sein und noch so grosse Erkenntnisse praktisch und theoretisch haben, ist nicht in der Lage, aus einem Kaffee, der schlecht aufbereitet ist, etwas Gutes herzustellen. Umgekehrt ist ein Pflanzeur, der ein gut aufbereitetes Produkt anbietet, enttäuscht, wenn der Röster hieraus durch mangelnde Sachkenntnis keinen guten Kaffee zu Wege bringt.



Dabei ist hervorzuheben, dass diejenigen Chemiker und Sachverständigen, die in den Ursprungsländern Forschungen zur Qualitätsverbesserung von Kaffee durchführen, vor besonders schwierigen Aufgaben stehen, weil es oft an den notwendigen Hilfsmitteln fehlt — und wenn diese vorhanden sind, dann spielen noch andere an sich nebensächliche Faktoren eine ungünstige Rolle. Aus diesem Grunde bleiben manche Versuche, die drüben begonnen werden, unvollendet. Umsomehr müssen wir deshalb den Forschungsergebnissen Beachtung schenken, die hier zu uns gelangen, hier in ein Zentrum, wo es darauf ankommt, um Zusammenarbeit zu werben, d. h. Probleme auch von uns aus, also von den Verbrauchsländern aus, wo wir gut eingerichtet sind, zu lösen helfen. Wir müssen den im Ausland arbeitenden Kollegen in jeder Hinsicht behilflich sein.

THE FLUIDIZED BED DRYING OF COFFEE

C. ROLZ, J. F. MENCHÚ, E. ARIMANY

ICAITI, ANACAFÉ, School of Chemical Engineering, Guatemala

INTRODUCTION

The drying operation in green coffee processing is a basic and necessary step. If the washed or wet method is employed, the drying operation is performed on the depulped, demucilaged and washed bean. On the other hand if the natural or dry process is utilized, the drying is done on the whole fruit.

Most of the drying is done by sun drying, although a tendency exists to employ machine drying more often.

In Central America washed coffees are usually dried in two steps, initial sun drying followed by a finishing operation in machine dryers, due mainly to adverse climatic factors during harvesting or due to a limited patio area.

The dryers most commonly used are of the Guardiola type, whose description and characteristics can be found elsewhere (1).

The purpose of this work was to find the suitability of employing the technique known as fluidization, for the drying of washed coffee beans.

Fluidization is a method of solid-fluid contacting, where the solid particles are suspended in a fluid stream. It has been applied successfully to a variety of unit operations and can also be utilized as a chemical reactor (2). Recently a book has been published dealing with its adaptation as a dryer (3) and a paper gives in detail its application as a coffee roaster (4).

The experimental approach taken consisted not only of an engineering study on the behavior of the variables involved, but, as it is inevitable in coffee drying, a systematic analysis of the relationship existing between operation and the quality of the product obtained.

The present paper summarizes the work that is presented in detail elsewhere (5). A brief description of the experimental apparatus and the methods employed, followed by a presentation of some of the results obtained and their discussion, are given below.

EXPERIMENTAL EQUIPMENT AND METHODS

The pilot plant dryer was designed and built at the School of Chemical Engineering. It is shown in figure 1. Briefly, it consisted of a fluidized bed column, made of a .812 foot diameter iron tube, a blower, and the required instrumentation. The air was forced through a venturi flow meter, a propane combustion chamber, a packed section, the distributor plate located at the lower end of the bed and the bed itself. Then, it was either vented to the atmosphere or directed to the cyclone. The unit was provided with a screw feeder and a movable discharge tube. At the lower and upper part of the bed, two mercury thermometers, to measure dry and wet

bulb temperature of the air, and a pressure tap, were located. The pressure taps are connected to a U-tube manometer.

The experimental procedure was rather simple. A known weight of washed coffee was introduced into the column, which had been previously set at the desired values of air flow and temperature. At the end of the run, the dry product was removed and the unit was ready to be changed to a new set of conditions to start a new batch. The moisture of the coffee was continuously followed by removing a sample from the bed at different time intervals. These samples are true representatives

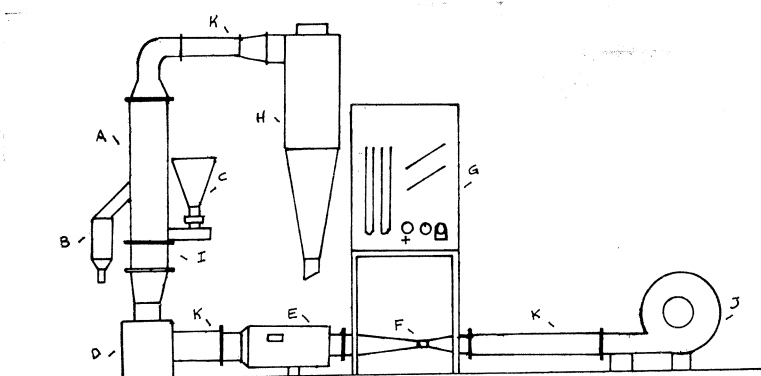


Fig. 1. — Fluidized bed dryer
 A-Fluid bed ; B-solids outlet ; C-solids inlet ; D-elbow ; E-combustion chamber ; F-venturi ; G-controls and instrumentation ; H-cyclone ; I-packed section ; J-blower ; K, tubing.

of the moisture values within the bed at known time, due to the high degree of mixing that is associated with a fluidized bed (2,4). The moisture was determined in a «Struers» (Denmark) laboratory moisture meter, operated at 105° C until constant weight (usually 4 hours). Although the values obtained by this method may not represent the true moisture content of the bean, like the

one obtained by more elaborate techniques (6), nevertheless they were useful guides and a satisfactory approximation. Coffee quality was detected by organoleptic characterization of the corresponding roasted cups. The testing was done by experts at the Guatemalan Coffee Association. Pressure drop data, whenever it was desired, was simply read from the manometer.

RESULTS AND DISCUSSION

Drying conditions and quality

A first series of experiments was done, employing air at high temperatures and fresh washed coffee cultivated at 4 500 feet. Final moisture was around 10 %. The results are shown in table 1. It can be noted that

TABLE 1

Experiment	Inlet air temperature °C	Drying time (minutes)	Initial moisture %	Final moisture %
1	90	100	52.0	7.7
2	80	100	52.0	12.4
3	60	270	52.0	9.4

the drying times are very low, compared to the standard practice, however, the quality of the resulting cups was classified as being very poor. The organoleptic defect found was classified by experts as a resemblance of a « completely fermented and dirty cup ». Guatemalan experts classified defects as fruity, sour and fermented, according to increase in damage. By examining the dried grains under ultraviolet light, all of them exhibited a white fluorescence, which has been denoted by McCLOY (7) as an indication of coffee damage due to « ageing » or oxidation.

A new series of experiments was planned with the purpose of exploring in more detail the effect of contact time and air temperature on the quality. The results are shown in table 2, p. 168. It should be clarified that the fresh washed coffee was obtained from the coffee processing plants, in small lots, usually 50-100 pounds. Approximately 15 pounds were used for experiments, and in every case a similar quantity was sun dried. The latter was used as the control sample in assessing quality. The coffee of the experiments in table 2 after leaving the dryer, was brought to 10 % moisture by sun drying. Some of the samples were compared against each other, and the results are shown as general remarks on group quality comparisons. The following trends can be observed from the figures shown on table 2.

The coffee is completely damaged by using air temperatures above 80° C, even for very short periods, say, more than five minutes. It should be pointed out that due to the high degree of mixing within the fluidized bed, fluid-particles during roasting, tend to attain the air temperature within 2 minutes (4). In these experiments, however, particle temperature was not measured. From previous works, several authors (8, 9, 10, 11, 12) employing different types of dryers, do recommend that in order to dry fresh-washed coffee, and during the initial stage, air temperature should not exceed 30° C, in order to keep good quality. It seems that the general consensus now is that coffee is less resistant to damage by heat the higher its moisture content.

TABLE 2

Experiment	Inlet air temperature °C	Contact time, (minutes)	Initial moisture %	Final moisture %	Remarks on quality
4	100	4	52.0	47.5	Completely fermented and dirty
5	90	20	52.0	35.1	Completely fermented and dirty
6	80	5	52.0	48.1	Completely fermented and dirty
7	80	40	52.0	23.2	Completely fermented and dirty
8	80	80	52.0	14.7	Completely fermented and dirty
9	70	5	52.0	45.7	Acceptable, but of very low quality
10	70	10	52.0	45.2	Acceptable, but of very low quality
11	70	15	52.0	44.4	Acceptable, but of very low quality
12	60	5	52.0	45.9	Acceptable
13	60	15	52.0	45.3	Acceptable
14	60	30	52.0	42.7	Acceptable, but of very low quality
15	60	60	52.0	38.1	Acceptable, but of very low quality
16	60	100	52.0	31.1	Completely fermented and dirty
17	60	180	52.0	17.3	Completely fermented and dirty
18	50	15	52.0	45.6	Acceptable, but of very low quality
19	50	20	52.0	45.5	Acceptable, but of very low quality
20	50	30	52.0	45.4	Acceptable, but of very low quality
21	50	40	52.0	41.6	Acceptable, but of very low quality
22	50	120	52.0	37.5	Acceptable, but of very low quality
23	40	15	52.0	45.6	Acceptable
24	40	40	52.0	44.0	Acceptable

General Remarks on
Group Quality Comparisons

Control (best)	No. 23 (best)
No. 13	No. 13
No. 21	No. 18
No. 16	No. 11 (worst)
No. 22 (worst)	

From the engineering viewpoint, this is a paradox, as pointed out by SIVETZ and FOOTE (1) because in the early stages, heat should be utilized to evaporate surface water only. Leaving the diffusion controlled drying stage, for the removal of internal moisture, and hence, grain temperature elevation. Data on surface and interior grain temperatures, as a function of drying time or moisture content is badly needed. As also is, a satisfactory chemical explanation of why this paradox is observed.

An interesting phenomenon which has been previously reported by BARROS-FERRAZ and ARUDA-VEIGA (13) can also be noted. It is logical to assume that at a fixed contact time, coffee quality should decrease as temperature is increased. It was observed, however, that for a treatment of 15 minutes, quality decreased, using the following air temperatures : 40, 60, 50 and 70° C (see comparison of experiments No. 23, 13, 18 and 11). To check this, new samples were treated at 40, 50, 60 and 70° C for 5, 10 and 15 minutes. They all were tested blindly against a control sample. With the 50 and 70° C samples in all the tests performed, the experts classified the control as the best sample in the group. However, with the 40 and 60° C temperatures the results obtained had a random arrangement. In table 3, the results for

TABLE 3

(Samples dried at 60 °C for 5, 10 and 15 minutes)

Quality test No.					
1		2		3	
A	B	A	B	A	B
15	15	15	Control	Control	10
5	10	Control	15	15	15
Control	Control	10	10	5	Control
10	5	5	5	10	5

Notes : i) A and B mean expert « A » and expert « B » ;
ii) Three quality tests were performed on the same samples ;
iii) the best quality is the figure at the top.

the samples at 60° C are presented. As can be seen, for three tests performed on the same sample by two individuals, there exists a confusion on the quality comparisons. An error of this kind is expected, specially on this kind of subjective testing, however, what is significant is the fact that the control was being confused with the test samples. If this observation is accepted as

valid, the findings suggest that between 40 and 60° C, there exists a critical temperature range, where quality decreases. This fact was stated by BARROS-FERRAZ and ARUDA-VEIGA (13). Again, it is rather difficult to give a sound chemical explanation of this observed fact, and to our opinion it is not logical to expect this kind of behavior.

After these experiences, it was thought a constructive exercise to carry out experiments on which the coffee was first exposed to sunlight for different amounts of time and then it was dried to 10 % moisture in the fluid bed. The results are shown in table 4. The quality of these samples, in general, was superior to the one reported before. The figures given suggest that, from the quality viewpoint, two distinct zones of drying conditions exist. The first one from fresh washed coffee up to a « certain critical moisture content » that needs to be done with air at very low temperatures and preferably under sunlight, and a second step, where coffee is more resistant to increased air temperatures, so the drying can be forced without impairing the quality too much. LLEWELYN (8) has identified three zones. The first one is identical to ours, but his last step differs only in that he recommends a slow rate of drying at 10 % moisture content, or in that vicinity, in order to get a homogeneous sample. Homogeneity within the fluidized bed is one of its virtues, so that his last two steps are identical to our own second stage.

Four more experiments were performed, with the main purpose of defining the moisture range where this « critical moisture content » could be located. The results are shown in table 5. Experiments 30 and 31 were dried in the fluidized bed with air at ambient temperature (around 30° C) up to 43-45 % moisture. Drying was

finished under the sun. Experiments 32 and 33 were dried completely in the fluidized bed. The first stage, with air at 30° C and then the second stage with a temperature increase to 60° C. The samples obtained were qualified as good commercial coffee. The total drying time is, as can be observed in the table, around 8 to 9 hours. IVES (14) reports times for tray dryers of 12 hours, employing air at 40° C, 6 hours with air at 71° C and three hours for air at 82° C, although he does not give quality results. BROWNBRIDGE (10) has stressed the importance of coffee agitation during drying, specially in the final stages, on the resulting quality. The fluidized bed dryer fits this demand adequately and coffee can be dried satisfactorily in two stages as reported earlier.

Drying curves

A series of experiments were performed to study the relation of the drying rate and the following variables : air temperature, velocity and bed loading. The results obtained are described elsewhere in detail (5). Figures 2 and 3 (p. 170) show the characteristic shape of the drying curves observed in the experiments. It was found that for a fixed bed loading and air flow, the higher the temperature the lesser the time required. On the other hand for a fixed bed loading and air temperature, variations in air velocity did not make an observable difference in drying times. This suggests that drying is limited by diffusion of moisture within the coffee particle, and that surface moisture removal and hence, air film resistance is negligible. Then, it can be argued that there is really no need to fluidize coffee particles, in order to increase heat and mass transfer, at the expense of more invested

TABLE 4

Experiment	Inlet air temperature °C	Drying time (minutes)	Initial moisture %	Final moisture %	Remarks on quality
25	70	135	33.2	9.2	Dirty, sour
26	60	260	43.8	13.6	Harsh, somewhat sour
27	60	250	40.7	12.5	Harsh, somewhat sour
28	60	120	21.3	12.0	Harsh, somewhat sour
29	60	50	15.5	9.9	Good quality

TABLE 5

Experiment	Inlet air temperature °C	Drying time (minutes)	Initial moisture %	Final moisture %	Remarks on quality
30	30	185	52.0	45.6	Acceptable, a little harsh and dirty
31	30	240	52.0	43.1	Acceptable, a little harsh and dirty
	30	185	52.0	45.6	Acceptable, a little sour
32	60	210	45.6	31.7	Acceptable, a little sour
	30	240	52.0	43.1	Acceptable, a little sour
33	60	240	43.1	15.4	Acceptable, a little sour

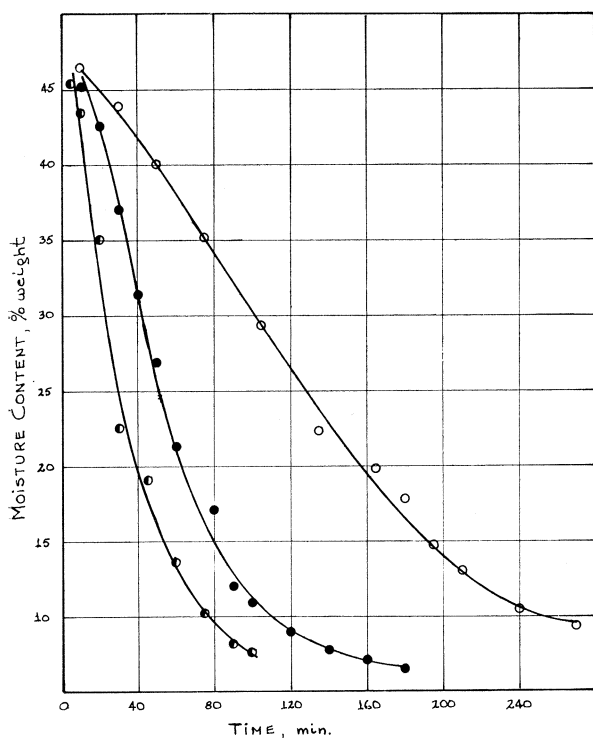


Fig. 2. — Drying curves

○ ; air temperature 60° C ; air flow rate 2755 lbs/ft² hr ; bed loading 14 pounds.

● ; air temperature 80° C ; air flow rate 2745 lbs/ft² hr ; bed loading 14 pounds.

● ; air temperature 90° C ; air flow rate 2650 lbs/ft² hr ; bed loading 8 pounds.

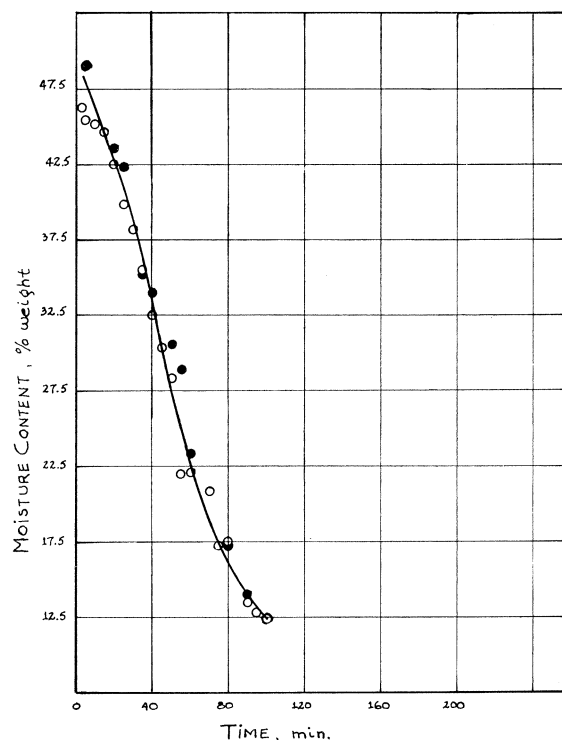


Fig. 3. — Drying curves

Constant temperature 80° C and 14 pounds bed loading.

○ ; air flow rates 2350 and 2615 lbs/hr ft².

● ; air flow rates 2745 and 3090 lbs/hr ft².

energy (the air pressure drop is higher in a fluidized bed than in a packed bed). However, as was earlier discussed, there is a need for particle movement and mixing. The spouted bed dryer seems a logical compromise, where good particle movement and heat transfer characteristics are obtained and there is no excessive pressure drop associated with air flow (15).

Fluidization characteristics of parchment coffee

There are two fundamental parameters that must be known in order to fluidize a solid particle. These are,

the minimum fluidization velocity and the associated air pressure drop. The first variable is defined as the air velocity required to suspend the particles in the bed. Experiments, which are described in detail elsewhere (5), were performed under different bed loadings, employing fresh washed coffee. Figure 4 shows experimental points for six trials. The minimum fluidization velocity and the pressure drop are the coordinates of the intersection point of the two straight lines drawn for each trial. The results are summarized in table 6. It can be observed that G_{fm} increases as the bed loading increases, with the exception of experiment 3, which is suspected to be in error. This tendency has been found also elsewhere (4).

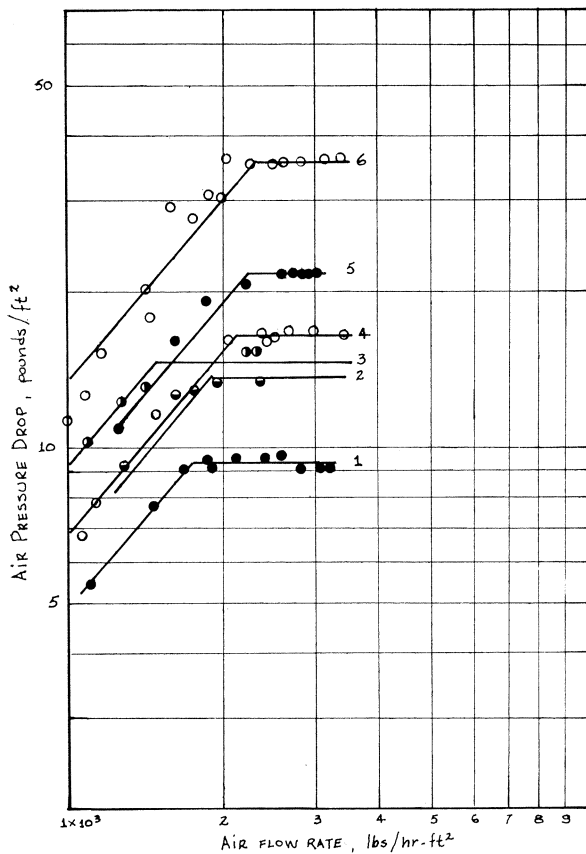


TABLE 6
Minimum fluidization velocity (G_{fm})
and air pressure drop (ΔP_{fm}) for washed coffee

Experiment	Coffee bed loading (lbs)	G_{fm} lbs/hr — ft ²	P_{fm} lbs/ft ²
1	6.6	1 750	9.4
2	8.8	1 900	13.7
3	9.5	1 500	14.7
4	10.8	2 150	16.5
5	13.2	2 230	23.5
6	21.6	2 840	35.9

Fig. 4. — Experimental minimum fluidization velocity and pressure drop data

CONCLUDING REMARKS

From the experiences reported in this paper, several remarks might seem appropriate :

— Coffee can be dried in a fluidized bed, using two sets of conditions. This last divides the drying cycle in two stages. The first must be done using air at ambient temperature. At around 43 % moisture air temperature may be increased to 60° C and drying can be continued to a 10 % final moisture.

— Drying times, using the technique described above, in the fluidized bed dryer are around 8-9 hours.

— The minimum fluidization velocities and associated air pressure drops have been found experimentally and correlated with the bed loading.

— An interesting aspect about fluidized bed drying is the fact that it can be easily adjusted to a continuous

operation. This goal is a specific target for future experimentation.

— It is felt that a mathematical drying model, at this moment, is not yet needed for the successful design and operation of commercial dryers. Rather, results point out to address experimental efforts into a clearer understanding of chemical and biochemical changes that occur during the drying stage and their relation to grain quality. Tremendous progress has been made by chemists identifying chemical compounds in the coffee bean, undoubtedly new material will come. We technologists should benefit from these efforts, and we should contribute accordingly, so that in a near future, it is hoped, coffee processing can be described with scientific words. Towards this end we shall endeavour.

LITERATURE

1. SIVETZ, M. S. and H. E. FOOTE. — « Coffee Processing Technology » Volume 1, The Avi Publishing Co. Inc. Connecticut, 1963.

2. ZENZ, F. A. and D. E. OTHMER. — « Fluidization and Fluid-Particle Systems », Reinhold Publishing Co., New York, 1960.

3. VANECEK, V., M. MARKVART and R. DRBOHLAV. — « Fluidized bed drying », Leonard Hill, London, 1966.
4. ROLZ, C., J. F. MENCHÚ, J. SANDOVAL and P. SIMÓN. — « La tostación continua del café en cama fluida » presentado en el X Congreso Interamericano de Química, Costa Rica, 1969. *Café* (Lima), vol, 9, nº 3, juil.-sept. 1968, p. 3-19, fig., réf.
5. ARIMANY, E. — « El secamiento del café en cama fluida » Tesis. Escuela de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos, Guatemala, 1969.
6. WOOTTON, A. E. — « A comparison of methods for the measurement of moisture content in parchment and green coffees ». 3^e Colloque International sur la chimie des cafés, Trieste, 1967.
7. McCLOY, J. F. — « Mechanical Drying of Arabica Coffee ». *Kenya Coffee*, 24, 3-16, April 1959.
8. LLEWELYN, D. A. B. — « Coffee drying. A summary of a preliminar report to the Coffee Board of Kenya ». *The Coffee Board of Kenya Monthly Bulletin*, 20 (234), 153-159 (1955).
9. McCLOY, J. F. — « Progress in Coffee Drying Research ». *The Coffee Board of Kenya Monthly Bulletin*, 23 (267), 65-68, March (1958).
10. BROWNBRIDGE, J. M. — « Test report Perkins drier unit ». *Tanganyika Coffee News*, 5 (4) 157-169 (1965).
11. RODRIGUEZ, D. B., H. A. FRANK and E. T. FUKUNAGA. — « A guide to processing Kona Coffee cherries ». University of Hawaii Cooperative Extension Service, Circular 415, November 1966.
12. WALLIS, J. A. N. — « La calidad del café arabica en Kenia y Tanzania ». *Café*, 8 (1-2), 3-17 (1967).
13. BARROS FERRAZ, M. de, and ARRUDA VEIGA, A. de. — « Secagem racional do Café ». *Boletim da Superintendencia dos servicos do Café*, 29 (325), 5-16 (1954).
14. IVES, N. C. — « Estudios sobre secamiento de Café ». *Turrialba*, 5 (1-2), 17-25 (1955).
15. TREYBAL, R. E. — « Mass transfer operations ». Mc Graw-Hill Book Co. Inc., Kogahusha Co. Ltd., New York-Tokyo, 1968.

ROLZ (C.), MENCHÚ (J. F.), ARIMANY (E.). — **Le séchage du café en couche fluidisée.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 166-173, fig., tabl., réf.

Le principe de la « fluidisation » a été adapté au séchage du café en parche. Un prototype a été conçu et construit dans lequel différents types de café du Guatemala ont été séchés en faisant varier les conditions suivantes : flux d'air, température, humidité initiale et humidité finale du café, épaisseur de la couche.

Les auteurs donnent les vitesses minima de fluidisation déterminées expérimentalement, les chutes de pression et les courbes de séchage correspondantes. Ils ont trouvé que la qualité du café était la meilleure lorsque le séchage était effectué en deux étapes comprenant une première période à basse température, suivie d'une plus longue période au cours de laquelle des températures plus élevées sont utilisées.

ROLZ (C.), MENCHÚ (J. F.), ARIMANY (E.). — **The fluidized bed drying of coffee.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 166-173, fig., tabl., réf.

The method of fluidization has been adapted to the drying of parchment coffee. A pilot unit was designed and built, in which different kinds of Guatemalan coffees were dried under various conditions of : air flow and temperature, initial and final coffee moistures and bed loadings. Experimental minimum fluidization velocities, associated pressure drops and drying curves are reported. It was found that the best quality of coffee was obtained when the drying was conducted in two steps : an initial low temperature period followed by a longer one employing higher temperatures.

ROLZ (C.), MENCHÚ (J. F.), ARIMANY (E.). — **Die Trocknung des Kaffees in fluidisierten Schichten.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 166-173, fig., tabl., réf.

Das Prinzip der « Fluidisierung » wurde bei der Trocknung von Kaffees in der Schale angewandt. Es wurde ein Prototyp entworfen und hergestellt in welchem verschiedene Muster von Kaffee aus Guatemala bei Variierung folgender Bedingungen getrocknet wurden : Luftströmung, Temperatur, Anfangsfeuchtigkeit und Endfeuchtigkeit des Kaffees, Schichtdicke.

Die Autoren geben die versuchsweise bestimmten Minimalgeschwindigkeiten der Fluidisierung, die Druckabfälle und die entsprechenden Trocknungskurven bekannt. Sie fanden, dass die Qualität des Kaffees am besten war, wenn die Trocknung in zwei Etappen vorgenommen wurde, nämlich eine erste Tieftemperaturperiode gefolgt von einer längeren Periode während welcher höhere Temperaturen angewendet wurden.

DISCUSSION

M. WOOTTON : *If I may, Mr Chairman, I could add comments based upon East African conditions. On the whole, results reported by Rolz, Menchú and Arimany accord with conclusions reached years ago in East Africa, which is largely that coffee drying initially needs to be slow, if possible avoid fully mechanical drying, as far as you can, and to attain full quality potential, some degree of sun drying is absolutely essential.*

This is a little unfortunate since in Guatemala as in East Africa we are normally harvesting during rainy weather, and because of this and because of the known fact that coffee quality is improving during drying, i. e. drying is vital to fine quality, a programme of work is being undertaken in East Africa to follow up the chemical changes that occur during sun drying. This is of course exactly what these Guatemalan authors are recommending. The work that is being undertaken will probably benefit notably from the sort of work which has excellently been reported by Dr Wurziger on the other day.

I think that we have to face up to the need for mechanical drying and it could well be that the fluidized bed principle provides some useful answer.

Not being an engineer, I could not comment upon the economics of using a fluidized bed dryer, but it could well be that Mr Wilboux would like to comment on this aspect.

M. KADEN : Ich danke Herrn Dr Wootton für das Referat und auch dafür, dass er auch selbst einen Kommentar gegeben hat. Dazu möchte ich noch einiges bemerken. Ich persönlich habe mich fast vier Jahrzehnte mit der Trocknung des Kaffees befasst, und zwar oft auch ohne Laboratorium. Ich war dann auf die praktischen Beobachtungen allein angewiesen und vor allem auf die Beurteilung des Kaffees nach dem Rösten auf organoleptischem Wege.

Es ist unerlässlich, dass wir uns über die Trocknung des Kaffees chemisch näher unterrichten müssen, und ich nehme an, dass frühere auch jetzige Vorträge in der ASIC dazu beitragen werden, in dieser Hinsicht voran zu kommen

Was ich im besonderen zu den Referaten der Herren Rolz und Dr Wootton zu bemerken habe, ist folgendes.

Als ich vor einigen Jahrzehnten zum ersten Mal nach Costa Rica kam, habe ich dort noch Kaffeepflanzer kennengelernt, die ihren Kaffee nicht nur in der Sonne oder mit Heissluft trockneten, sondern ihn vorher im Schatten — weil er dadurch am besten wurde — vortrockneten. Das bestätigt die Beobachtung, die auch hier jetzt wiederholt erwähnt wurde, dass man beim Trocknen des Kaffees äusserst vorsichtig sein soll, indem man mit niedrigen Temperaturen beginnt und diese erst zum Schluss steigert. Wie Herr Rolz festgestellt hat, ist dafür 80° C die kritische Temperatur. Naheliegender, dass wir künstliche Trocknungssysteme entwickeln müssen, die diese Voraussetzungen erfüllen. Es gibt dazu gute Trommeltrockner, und die sehr gut geeigneten Turbinentrockner, die allerdings in der Anschaffung sehr teuer sind und jetzt, wie wir gehört haben, den Wirbeltrockner. Beim Wirbeltrockner kann ich mir allerdings nicht vorstellen, dass er den gesamten Trocknungsvorgang allein bewältigt, da er zu schnell trocknet. Für eine Trocknungsphase wird er sicherlich gut geeignet sein, und die müsste man noch ausfindig machen.

In diesem Zusammenhang möchte ich auf das Problem der sogenannten « Springer » hinweisen, zu dessen Lösung man mich kürzlich herangezogen hat. « Springer » sind nass aufbereitete Arabica-Bohnen, die beim Rösten auseinanderplatzen, Ohren und Bruch liefern. Sie sind vornehmlich in Partien aus Mittelamerika zu finden. Ausserdem pflegen die « Springer » nach dem Rösten zu schwitzen, d. h. das Kaffeeöl tritt an die Oberfläche.

Dies ist ein vom Verbraucher von Röstkaffee in der Bohne zu Beanstandungen führender Schönheitsfehler. Für Kaffeepflanzer, die Partien mit derartigen « Springern » liefern, bedeutet daher dieses preisliche Nachteil.

Die Ansicht der Pflanzer war bisher, dass « Springer » auf irgendeine Pflanzenkrankheit zurückzuführen sind oder, dass die betreffenden Bohnen leicht überfermentiert sind und daher beim Rösten platzen.

Bei Trocknungsversuchen mit frischen Pergaminos konnte ich einwandfrei beweisen, dass « Springer » durch zu rasches Trocknen bei Temperaturen von 80° bis 90° C entstehen. Verständlich, dass ich daher über die Trocknung im Wirbeltrockner meine Bedenken geäussert habe.

M. COSTE : Depuis le 1^{er} colloque, je suis de plus en plus impressionné par l'accroissement des connaissances sur les cafés verts et torréfiés, résultats des investigations approfondies poursuivies par de nombreux laboratoires de recherches dans les pays consommateurs. La connaissance des composants chimiques et aromatiques de ces cafés permet certes de sauvegarder leur qualité, même de l'améliorer par certaines techniques de torréfaction. Cependant, il ne faut pas perdre de vue que la qualité intrinsèque d'un café lui est conférée dans le pays de production. On sait que celle-ci varie avec les espèces et variétés botaniques, mais aussi qu'elle est sous la dépendance du milieu écologique et d'une certaine mesure des techniques culturales. On a vu, avec l'exposé qui vient d'être fait et les commentaires du Dr Wootton, que la conduite du séchage avait une action considérable sur cette qualité intrinsèque. Or, nous ne savons encore à peu près rien des phénomènes chimiques et bio-chimiques dont la fève est le siège au cours du séchage, lesquels ont une influence certaine sur les qualités organoleptiques. C'est pourquoi j'apprécie beaucoup le projet de recherches dans l'Est Africain, dont le Dr Wootton nous a fait part. J'ai moi-même orienté récemment un travail de thèse en République de Côte-d'Ivoire sur ce sujet, avec le café Robusta.

Je souhaiterais que mention soit faite dans le rapport de synthèse de l'intérêt que nous portons tous à l'intensification des recherches sur ce sujet dans les pays de production qui disposent d'organismes qualifiés de recherches.

VERÄNDERUNGEN HOCHPOLYMERER KOHLENHYDRATE BEIM RÖSTEN VON ARABICA - KAFFEE

H. THALER, W. ARNETH

Institut für Lebensmittelchemie der Technischen
Universität Braunschweig



H. THALER

Beim III. Internationalen Kolloquium über die Chemie des Kaffees in Triest (1) war über Kohlenhydrat-Komplexe von Arabica-Kaffee berichtet worden. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sollen noch einmal zusammenfassend dargestellt werden :

Aus 4 Sorten von Rohkaffee konnten 4 Komplexe isoliert werden, die sich in ihren Löslichkeitseigenschaften und zum Teil auch in ihrer Zusammensetzung sehr deutlich voneinander unterscheiden.

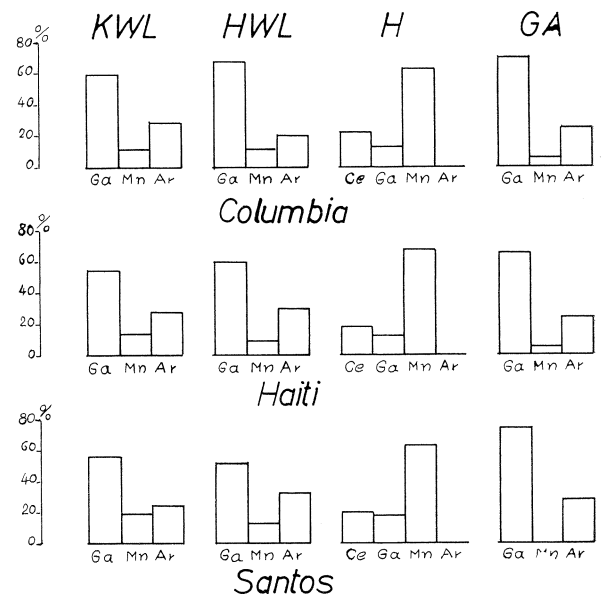
Der eine dieser Komplexe ist in kaltem Wasser löslich, ein anderer nur in heissem. Die Zellwand, die sog. Holocellulose, ist ein weiterer Komplex, der jedoch in Wasser völlig unlöslich ist. Ein vierter Komplex schliesslich wird erst nach einem chemischen oder enzymatischen Abbau von Proteinen wasserlöslich (2).

Die Zusammensetzung der beiden ersten Komplexe weist keine grösseren Unterschiede auf (Abb. 1). Diese in kaltem bzw. heissem Wasser löslichen Anteile bestehen zum grössten Teil aus Galactan, Araban macht etwa die Hälfte dieses letzteren aus, während von Mannan nur verhältnismässig wenig vorhanden ist.

Gänzlich anders ist dagegen die Holocellulose zusammengesetzt. Sie besteht überwiegend aus Mannan neben etwa 20 % Cellulose, einem geringen Prozentsatz Galactan, während Araban fehlt.

Wiederum völlig anders ist die Zusammensetzung des 4. Komplexes, der ein Galactoaraban darstellt. Wie

Abbildung 1. — Zusammensetzung der Kohlenhydrat-Komplexe von rohem Arabica-Kaffee. (KWL = in kaltem Wasser löslicher Komplex, HWL = in heissem Wasser löslicher Komplex, H = Holocellulose, GA = Galactoaraban, Ga = Galactan, Mn = Mannan, Ce = Cellulose, Ar = Araban.)



WOLFROM und PATIN (2) feststellten, sind Galactose — und Arabinoseanhydrid im stöchiometrischen Verhältnis 5 : 2 darin vorhanden, was von THALER und ARNETH (3) bestätigt wurde. Während WOLFROM und PATIN aber bei dem von ihnen untersuchten Galactoaraban, das aus einem Santos-Kaffee gewonnen worden war, Mannan nicht nachweisen konnten, fanden THALER und ARNETH bei einem Columbia- und einem Haiti-Kaffee einige wenige Prozent dieses hochpolymeren Kohlenhydrates, bei Santos- und Kenya-Kaffee war der Komplex aber ebenfalls frei von Mannan.

Beim Rösten traten nun Veränderungen in der Zusammensetzung dieser 4 Komplexe auf (Abb. 2*). Schon bei leichter Röstung, d. h. bei einem Einbrand von ca. 12 %, ist die prozentuale Zusammensetzung des wasserlöslichen Komplexes stark verändert (4). Galactan und Araban nehmen ab, während der Anteil des Mannans sich beträchtlich erhöht. Bei zunehmender Röstung (Einbrand ca. 15 % bzw. 19 %) werden diese Veränderungen immer deutlicher.

Relativ wenig angegriffen wird die Holocellulose, bei welcher das gegenseitige Verhältnis der einzelnen Komponenten zu einander wenigstens einigermaßen gewahrt bleibt.

Stark verändert wird dagegen das Galactoaraban, dessen prozentualer Gehalt an Mannan kräftig zunimmt, wobei dieses letztere auch bei jenen Kaffee-Sorten schon bei leichter Röstung auftaucht, die in diesem Komplex des Rohkaffees kein Mannan enthielten.

So weit war seinerzeit in Triest berichtet worden, und es fragte sich nun, ob und wie weit nicht nur die prozentuale Zusammensetzung der verschiedenen Komplexe beim Rösten beeinflusst wird, sondern ob dabei auch ihre Menge Änderungen erfährt.

Betrachtet man den gesamten wasserlöslichen Polysaccharid-Komplex eines Rohkaffees, d. h. die in kaltem und in heissem Wasser löslichen Polysaccharide insgesamt, so zeigt es sich, dass ihr Anteil recht gering ist (Abb. 3). Bei den vier untersuchten Arabica-Sorten machte er etwa 3,4 % aus (5). Leichtes Rösten verursacht eine geringe Zunahme, die sich mit zunehmendem Röstgrad aber merklich steigert. Bei normaler Röstung beträgt die Menge des wasserlöslichen Komplexes bereits 5,8 %, bei einem Einbrand von etwa 20 % jedoch 6,8 % bis 7,6 %.

Im Gegensatz zum wasserlöslichen Komplex nimmt die Holocellulose in den gerösteten Kaffees ab. Das geschieht mit ziemlicher Regelmässigkeit, ohne dass irgendwo ein auffallender Sprung zu verzeichnen wäre.

Das Galactoaraban dagegen verhält sich ähnlich wie der wasserlösliche Komplex und nimmt im Laufe

* Da sich die 4 untersuchten Kaffee-Proben (Columbia, Haiti, Santos und Kenya) praktisch gleich verhielten, sind hier und in den folgenden Abbildungen nur die Verhältnisse beim Columbia-Kaffee dargestellt.

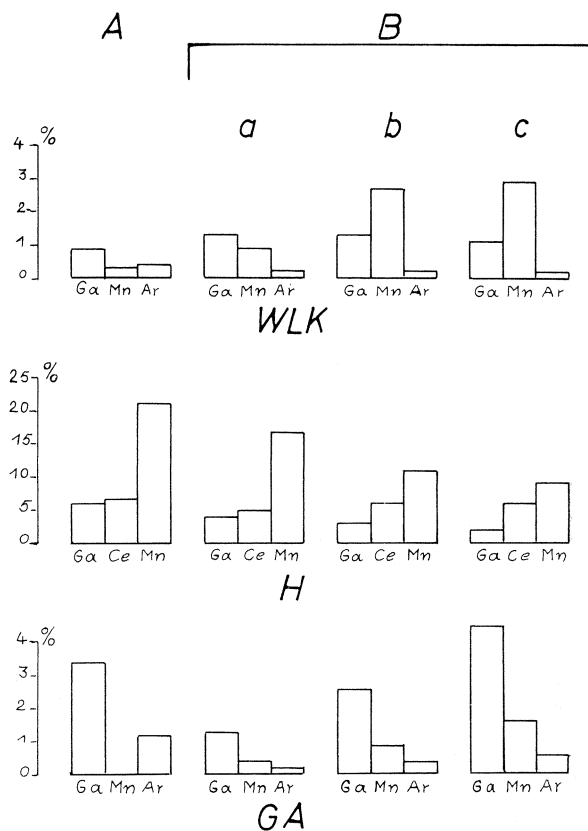


Abbildung 2. — Veränderungen in der Zusammensetzung der Kohlenhydrat-Komplexe eines Columbia-Kaffees beim Rösten. (WLK = wasserlöslicher Komplex, H = Holocellulose, GA = Galactoaraban, A = Rohkaffee, B = Röstkaffee, a = leichte, b = mittlere, c = starke Röstung, Ga = Galactan, Mn = Mannan, Ce = Cellulose, Ar = Araban.)

der Röstung zu. Bei leichtem Rösten tritt allerdings kaum eine Veränderung ein. Sie ist jedoch bei normalem Einbrand schon recht merklich und stark gerösteter Kaffee enthält mehr als die doppelte Menge an Galactoaraban, die ursprünglich im Rohkaffee vorhanden war.

Das will aber sowohl hier als auch für den wasserlöslichen Polysaccharid-Komplex nicht viel besagen ; denn wenn die absolute Menge dieser beiden Komplexe sich nicht wesentlich ändert, so muss ihr Anteil am gerösteten Kaffee natürlich mit steigendem Röstverlust entsprechend zunehmen. Da man den Röstverlust kennt, so lässt sich ein bei einem gerösteten Kaffee gefundener Wert auf den Rohkaffee umrechnen.

Dabei ergibt sich, was nicht ohne weiteres zu erwarten war, dass die Menge des wasserlöslichen Komplexes mit steigendem Röstgrad tatsächlich zunimmt, d. h. die absolute Menge an diesen Polysacchariden wird durch pyrolytische Vorgänge grösser (Abb. 4).

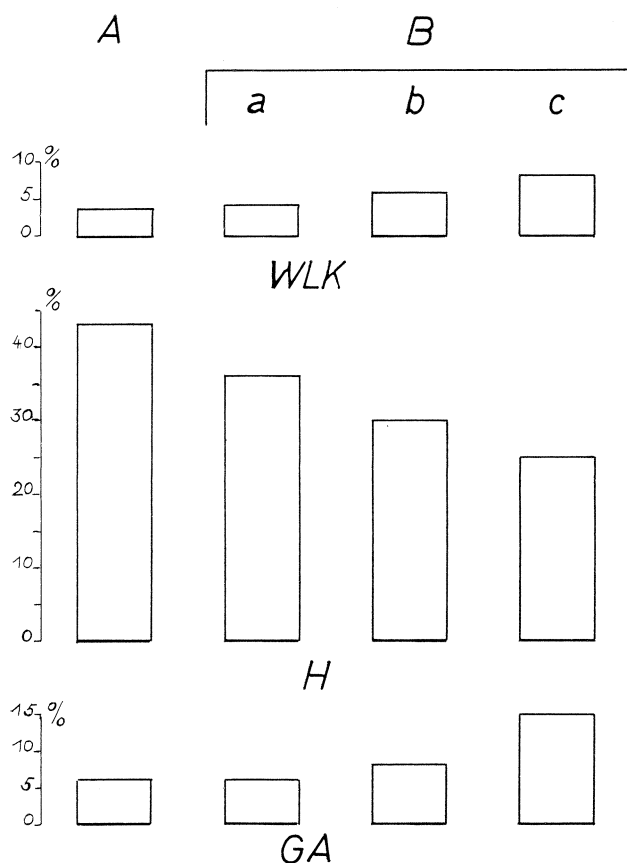


Abbildung 3. — Menge der Kohlenhydrat-Komplexe in rohem und geröstetem Columbia-Kaffee. (WLK = wasserlöslicher Komplex, H = Holocellulose, GA = Galactoaraban, A = Rohkaffee, B = Röstkaffee, a = leichte, b = mittlere, c = starke Röstung.)

Die Holocellulose dagegen verringert sich mit grosser Regelmässigkeit, wobei sogar schon schwaches Rösten einen recht beträchtlichen Substanzverlust zur Folge hat. Nach starkem Rösten ist nur noch annähernd die Hälfte der ursprünglichen Menge an Holocellulose vorhanden.

Besonders interessante Verhältnisse zeigt schliesslich das Galactoaraban. Leichtes Rösten bewirkt eine Verringerung der absoluten Menge dieses Komplexes um 10 % (Kenya) bis 60 % (Haiti). Bei normaler Röstung steigt jedoch die Menge des Komplexes wieder an und im stark gerösteten Kaffee ist schliesslich sogar mehr Galactoaraban vorhanden als der Rohkaffee ursprünglich enthielt.

Da nun die prozentuale Zusammensetzung jedes einzelnen der drei Komplexe sowohl des Rohkaffees als auch jeder Röststufe bekannt ist, so lässt sich somit die Menge der einzelnen Bestandteile wie Cellulose, Mannan usw. errechnen. Es ist daher möglich, die

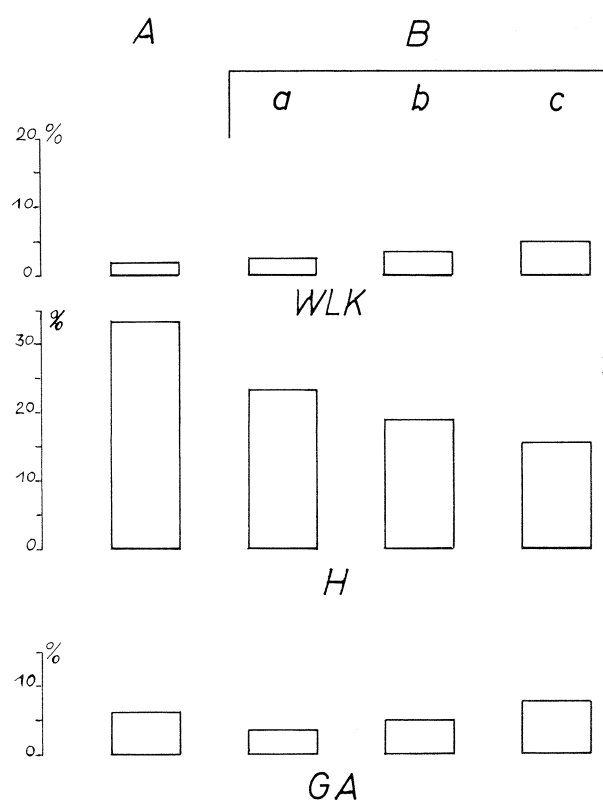


Abbildung 4. — Menge der Kohlenhydrat-Komplexe von rohem und geröstetem Columbia-Kaffee, berechnet auf die Trockenmasse des Rohkaffees. (WLK = wasserlöslicher Komplex, H = Holocellulose, GA = Galactoaraban, A = Rohkaffee, B = Röstkaffee, a = leichte, b = mittlere, c = starke Röstung.)

Veränderungen, welche diese verschiedenen Polysaccharid-Komponenten beim Rösten erfahren, quantitativ zu verfolgen und eine Cellulose-, Mannan- usw.-Bilanz aufzustellen.

Bei der Cellulose sind die Verhältnisse recht einfach, da sie stets nur in der Holocellulose nachzuweisen ist. Bei der Hydrolyse keines der beiden anderen Komplexe hat sich bisher Glucose, der Baustein der Cellulose, auffinden lassen. Da sich aber die absolute Menge dieses Polysaccharides mit zunehmendem Röstgrad vermindert, so muss man annehmen, dass der Fehlbetrag pyrolytisch völlig oder mindestens sehr weitgehend zerstört wird und jedenfalls nicht mehr als hochpolymeres Bruchstück vorhanden ist. Während aber die Holocellulose als Ganzes — d. h. der in Wasser nicht lösliche Komplex aus Cellulose, Mannan und Galactan — in den einzelnen Röststufen sehr regelmässig abnimmt, trifft das für die Cellulose selbst nicht zu. Sie verhält sich vielmehr recht eigenartig. Eine pyrolytische Zerstörung eines grösseren oder kleineren Anteiles

vollzieht sich, falls sie überhaupt eintritt, bereits beim leichten Rösten, stärkere Einwirkung der Rösttemperatur bringt keine weitere merkliche Zersetzung dieses Polysaccharids mit sich. Beim Haiti- und beim Santos-Kaffee war überhaupt keine wesentliche Abnahme der Cellulose festzustellen.

Für das Araban lässt sich eine solche Rechnung nicht mit Sicherheit durchführen. Araban ist ein Pentosan und zwar ein Furanosid. Als solches ist es aber bedeutend empfindlicher als die Pyranoside Glucose, Mannose und Galactose. Hier ist also nicht nur mit einer Pyrolyse, sondern auch in gewissem Ausmass mit einer Zerstörung durch die für die analytische Bestimmung notwendige Hydrolyse zu rechnen.

Anders ist es jedoch mit den beiden restlichen Polysacchariden Mannan und Galactan. Auch von ihnen wird unter dem Einfluss des Röstens ein gewisser Prozentsatz völlig zerstört. Dazu tritt aber noch ein weiterer Effekt, nämlich eine Verschiebung von einem Komplex zu einem anderen.

Im Rohkaffee findet sich nahezu das gesamte Mannan in der Holocellulose (Abb. 5). Das im wasserlöslichen Komplex und eventuell im Galactoaraban enthaltene Mannan macht nur 1-2 % des Rohkaffees aus. Leichtes Rösten vermindert die absolute Menge dieses Polysaccharides, ändert aber nichts an der Verteilung auf die verschiedenen Komplexe. Stärkeres Rösten wirkt sich nun aber auf die Menge des Mannans fast nicht mehr aus. Ähnlich wie es bei der Cellulose der Fall war, scheint ein Teil desselben pyrolytisch leicht angreifbar, der Rest aber recht stabil zu sein. Dagegen nimmt aber jener Teil des Mannans, der sich im wasserlöslichen Komplex befindet, merklich zu. Noch stärkeres Rösten vergrössert die Menge des « wasserlöslichen » Mannans noch mehr und zugleich ist auch der Anteil dieses Polysaccharids im Galactoaraban-Komplex kräftig angestiegen. In der Holocellulose nimmt jedoch das Mannan mit zunehmendem Einbrand laufend ab, es wird also unter dem Einfluss der Temperatur unlösliches Mannan dieses letzteren Komplexes allmählich in immer stärkerer Masse in lösliches übergeführt.

In gewisser Weise ähnlich verhält sich das Galactan (Abb. 6), das sich im Rohkaffee zu etwa gleichen Teilen in der Holocellulose und im Galactoaraban findet. Der im wasserlöslichen Komplex vorhandene Teil ist mengenmässig sehr gering. Leichtes Rösten bewirkt auch hier eine sehr deutliche Verringerung der Gesamtmenge, vor allem jenes Anteils, der im Galactoaraban gebunden ist. Stärkere Röstung verursacht ebenfalls keine Verringerung des Galactans im Ganzen mehr, jedoch nimmt jener Teil, der im Galactoaraban vorhanden ist, sehr regelmässig zu, während er aus der Holocellulose ebenso regelmässig verschwindet. Das Galactan des wasserlöslichen Komplexes dagegen verändert sich mengenmässig praktisch überhaupt nicht.

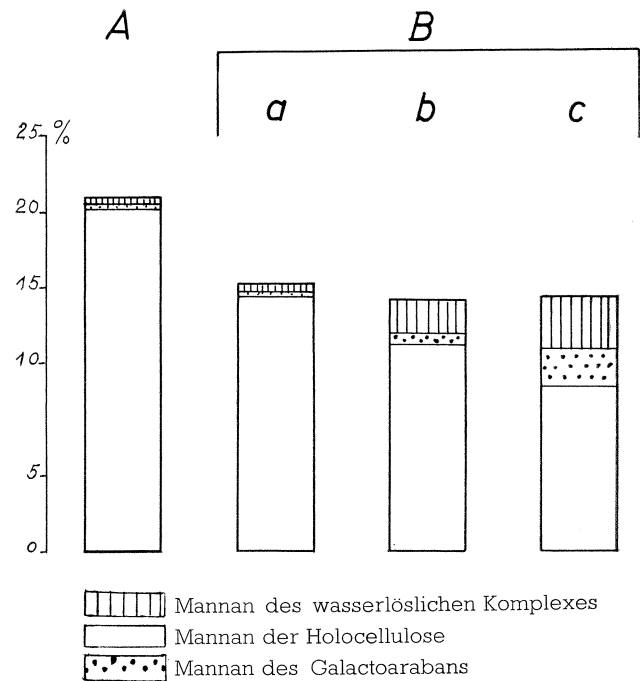


Abbildung 5. — Mannan-Bilanz eines Columbia-Kaffees. (A = Rohkaffee, B = Röstkaffee, a = leichte, b = mittlere, c = starke Röstung.

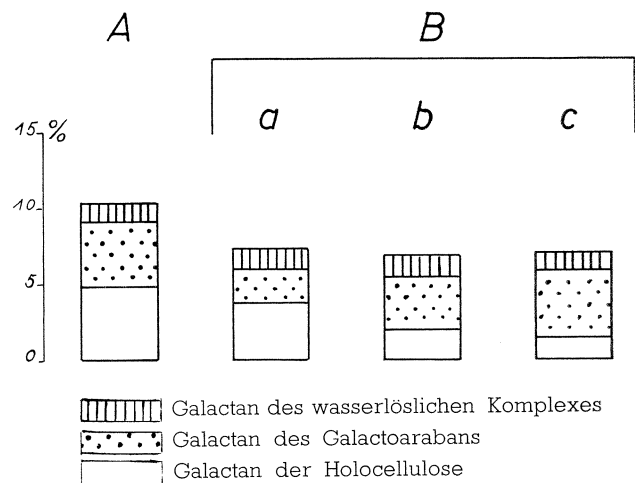


Abbildung 6. — Galactan-Bilanz eines Columbia-Kaffees (A = Rohkaffee, B = Röstkaffee, a = leichte, b = mittlere, c = starke Röstung.

LITERATUR

1. H. THALER u. W. ARNETH. — Troisième Colloque International sur la chimie des cafés, Trieste, 1967, S. 127.
2. M. L. WOLFROM u. D. L. PATIN. — *J. org. Chem.*, **30**, 4060 (1965).
3. H. THALER u. W. ARNETH. — *Ztschr. Lebensmittel-Unters.-Forsch.*, **138**, 26 (1968).
4. H. THALER u. W. ARNETH. — *Ztschr. Lebensmittel-Unters.-Forsch.*, **138**, 137 (1968).
5. H. THALER u. W. ARNETH. — *Ztschr. Lebensmittel-Unters.-Forsch.*, **140**, 101 (1969).

THALER (H.), ARNETH (W.). — **Transformations des hydrates de carbone hautement polymérisés au cours de la torréfaction du café Arabica.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 174-178, fig., réf.

Ces études montrent que la torréfaction du café Arabica ne provoque pas seulement une dégradation partielle des différents polysaccharides, mais qu'elle produit également des modifications dans la répartition de ces polysaccharides à l'intérieur des trois complexes. Il s'ensuit que mannane et galactane de la holocellulose, insolubles à l'origine, deviennent par pyrolyse de plus en plus solubles. Le complexe soluble dans l'eau du café torréfié s'enrichit en mannane et le galacto-arabane en galactane.

THALER (H.), ARNETH (W.). — **Transformation of highly polymerised carbohydrates in the course of roasting of Arabica coffee.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 174-178, fig., réf.

These investigations show that the roasting of Arabica coffee does not only provoke a partial degradation of the different polysaccharides but that it also causes modifications in the distribution of these polysaccharides within the three complexes. It follows that mannane and galactane of the holocellulose, originally insoluble, become increasingly soluble by pyrolysis. The water-soluble complex of roasted coffee becomes richer in mannane and the galactoarabane richer in galactane.

THALER (H.), ARNETH (W.). — **Veränderungen hochpolymerer Kohlenhydrate beim Rösten von Arabica-Kaffee.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 174-178, fig., réf.

Zusammengefasst ergeben diese Untersuchungen, dass das Rösten bei Arabica-Kaffee nicht nur eine teilweise Zerstörung der verschiedenen Polysaccharide bewirkt, sondern dass sich auch Veränderungen in der Verteilung derselben auf die drei Komplexe vollziehen. Daher wird ursprünglich unlösliches Mannan und Galactan der Holocellulose in steigendem Ausmass pyrolytisch löslich. Ersteres reichert sich vorwiegend im wasserlöslichen Komplex des Röstkaffees, letzteres im Galactoaraban an.

DISCUSSION

M. KADEN : Ich beglückwünsche Sie, Herr Prof. Thaler, zu dem, was Sie uns heute aus Ihren Forschungen Neues über die hochpolymeren Kohlenhydrate des Kaffees berichtet haben. Ihre Feststellungen am unterschiedlich gerösteten Arabica-Kaffee dürften dazu dienen, uns den unterschiedlichen Geschmack der betreffenden Kaffeeaufgüsse besser als bisher chemisch zu erklären.



F. CHASSEVENT

ÉTUDE DE RELATIONS ÉVENTUELLES GUSTATIVES OU CHIMIQUES EN FONCTION DE LA PRÉPARATION DU CAFÉ ROBUSTA AU STADE PRIMAIRE

F. CHASSEVENT, J.-C. VINCENT, D. HAHN, S. POUGNEAUD, R. WILBAUX

Institut Français du Café et du Cacao, Paris

Il est bien connu que le mode de préparation du café par traitement des cerises fraîches a une influence sur les qualités gustatives d'un café. La voie sèche provoque des saveurs plus rudes, une absence d'acidité, alors que la voie humide permet d'obtenir des cafés plus doux et acides, lorsqu'il s'agit de café Arabica.

De très nombreux travaux furent effectués sur la « fermentation » du café lors de la préparation par voie humide, notamment par VON LILIENFELD-TOAL (1), BECKLEY (2), ROELOFSEN (3), WILBAUX (4, 5, 6), PEDERSON et BREED (7), JACOBS et LEPP (8) et BOYCE (9).

Cette liste est loin d'être exhaustive. Mais dès 1935, au Kenya, CASE (10) notait que si du café Arabica dému-cilaginé mécaniquement, donc très rapidement, était ensuite lavé et séché, il lui manquait les qualités d'arôme et d'acidité qui caractérisent les bons crus de ce pays. Par la suite A. E. WOOTTON (11) a étudié d'une façon plus approfondie cette question de dému-cilagination rapide suivie d'un trempage dans l'eau, facteur d'amélioration de la qualité de cafés Arabica en Afrique orientale.

A la suite d'un essai international effectué en collaboration, WOOTTON (12) a conclu qu'en général les observations effectuées au Kenya antérieurement se trouvaient confirmées.

En ce qui concerne les recherches sur la préparation par voie sèche, comportant uniquement un séchage naturel artificiel ou mixte, il semble que les travaux dans ce domaine soient un peu moins nombreux. Les principales recherches ont été effectuées au Brésil,

sur café Arabica. Citons notamment les études et publications de DE CAMARGO et DE QUEIROS TELLES Jr (13), celles de BITTANCOURT (14) traitant surtout de la microflore qui se développe sur les drupes, de MED-CALF et coll. (15), de TOSELLO (16), de WILBAUX (17), etc...

La présente note a pour but d'exposer les résultats obtenus en utilisant, pour la préparation du café Robusta, quatre méthodes différentes. Les cafés ont été préparés au Cameroun par l'un d'entre nous. Six répétitions furent effectuées dans une plantation (A) de l'est du pays et quatre répétitions dans une autre plantation (B), dans l'ouest du même pays, soit au total dix répétitions.

Les quatre types de traitements comprenaient :

— Traitement 1 : Préparation par voie sèche. Les cerises fraîchement cueillies étaient étendues sur une aire en ciment à raison de 20 kg/m² jusqu'à siccité convenable. Elles étaient remuées fréquemment durant la journée.

— Traitement 2 : Dépulpage des cerises dans un appareil à tambour. Fermentation à sec durant 24 heures en seau à fond perforé. Lavage. Egouttage. Séchage du café en parche sur aire en ciment à raison de 20 kg/m².

— Traitement 3 : Dépulpage des cerises. Dému-cilagination par voie chimique dans une solution de NaOH N/10 durant 10 minutes. Lavage. Egouttage. Séchage sur aire en ciment (20 kg/m²).

— Traitement 4 : Dépulpage des cerises. Dému-cilagination par voie chimique dans une solution de NaOH N/10 durant 10 minutes. Lavage. Trempage durant

24 heures dans l'eau. Egouttage. Séchage sur aire en ciment (20 kg/m²). Il s'agit pour ce traitement de la technique préconisée par WOOTTON (11).

Le premier traitement constitue le témoin. Il s'agit du

mode de préparation généralement utilisé au Cameroun, encore que le séchage est toujours réalisé dans de plus mauvaises conditions, la charge de cerises fraîches atteignant souvent 40 kg/m² et même plus.

EXAMEN DES ÉCHANTILLONS DE CAFÉ VERT

Les expertises ont été réalisées sur des échantillons moyens de 300 g de café vert selon le barème fixé par le décret n° 62-DF-144 du 28 avril 1962 de la République Fédérale du Cameroun. Le café décortiqué ou déparché n'a subi aucun triage.

Examen statistique du nombre de défauts totaux

L'examen statistique fait en appliquant le test de HARTLEY montre qu'il n'y a pas de différences significatives entre les moyennes. Les divers traitements ne semblent pas influencer le nombre total de défauts (tableau 1).

TABLEAU 1

Nombre de défauts totaux

Traitement	1	2	3	4
Répétition				
1	67,1	100,8	70,6	56,9
2	55,6	26,0	63,7	77,7
3	82,9	37,3	56,3	73,1
4	120,1	132,3	96,9	161,8
5	107,7	73,3	115,5	80,9
6	81,1	110,9	97,9	25,6
7	31,4	66,7	109,0	53,6
8	58,1	57,2	89,1	120,8
9	68,8	49,3	60,3	62,2
10	n. d.	33,8	74,2	89,7

Examen statistique du nombre de fèves indésirables

Les nombres de fèves indésirables au sens du décret Camerounais ont été rassemblés dans le tableau 2.

Ici encore, pas de différences significatives entre les moyennes. Pas plus que dans le cas des défauts totaux, les différents traitements ne semblent influencer sur le taux en fèves indésirables (tableau 2).

TABLEAU 2

Nombre de fèves indésirables

Traitement	1	2	3	4
Répétition				
1	198	425	222	201
2	189	100	219	320
3	310	117	223	264
4	319	237	71	390
5	279	198	287	160
6	258	207	257	55
7	121	271	349	210
8	189	240	302	387
9	286	229	182	256
10	—	115	321	365

EXAMEN DES QUALITÉS A LA TASSE

La torréfaction et la préparation de la boisson à déguster ont été effectuées comme de coutume au laboratoire de l'IFCC à Nogent. De même, les signes conventionnels et les appréciations gustatives globales sont ceux que nous utilisons habituellement (18).

Odeur de la liqueur

Le traitement 1 (préparation par voie sèche) présente souvent un café à odeur désagréable et pour chaque répétition on relève une odeur défectueuse.

Le caractère « ligneux » apparaît fréquemment, mais se répartit dans tous les traitements ; on ne peut donc attribuer ce défaut au type de préparation.

Le traitement 3 (démucilagination chimique — pas de fermentation) donne généralement une boisson à odeur légèrement désagréable.

Le traitement 4 (démucilagination chimique — trempage du café durant 24 heures) semble être le meilleur. La boisson est le plus souvent dépourvue de défaut. On ne relève que deux fois le caractère ligneux qui n'est pas spécifique du traitement.

Corps, force et astringence

En moyenne, on peut considérer que le corps et la force des boissons examinées sont faibles. Il ne semble pas y avoir de lien entre le type de préparation et l'intensité du corps ou de la force.

L'astringence de tous les cafés a été classée de « faible » à « nulle ». Si pour le traitement 4 (avec trempage de 24 heures dans l'eau) les classements varient de « très faible » à « nulle », on ne trouve cependant pas de différence significative en appliquant le même test de HARTLEY.

Amertume

L'amertume est en moyenne nette, quel que soit le mode de préparation ; aucun lien n'existe entre ce goût et les traitements subis.

On note cependant une amertume un peu plus forte pour le café de la plantation B que pour celui de la plantation A.

Goûts particuliers

D'une manière générale, les cafés examinés présentent une boisson à goût ligneux, quel que soit le traitement mis en œuvre.

Aucun des échantillons ne présente de goût acide ce qui est normal dans le cas du café Robusta.

La préparation par voie sèche donne très souvent des boissons à goût « malpropre » avec des goûts particuliers (poivré, puant, fermenté) qui diminuent fortement la qualité.

Le traitement 4 se différencie nettement des trois autres par l'absence des défauts cités ci-dessus.

Examen des résultats du classement chiffré

Un classement chiffré permet de mettre en œuvre une analyse statistique et facilite ainsi l'appréciation. Tous les résultats figurent dans le tableau 3. Le tableau 4 donne la signification des cotations numériques.

Il est important de signaler que toutes les dégustations ont été menées à partir d'un café vert non épuré de ses fèves défectueuses, ce qui diminue évidemment la valeur à la tasse.

Les dégustations étant subjectives et variables, les cotations enregistrées présentent souvent des variances élevées. La variance résiduelle finale serait très grande et empêcherait toute interprétation. Il est préférable pour pallier ces inconvénients de tenir compte non plus de la cote, mais du rang.

Le test non paramétrique de FRIEDMAN (19) montre que l'hétérogénéité des populations est significative.

La table de FISCHER-YATES (20) fut utilisée pour transformer les rangs en données distribuées normalement.

Finalement, on peut tracer le graphique suivant (niveau de probabilité 0,01) :

T4	T2	T3	T1
----	----	----	----

Le traitement T4 (après trempage de 24 heures dans l'eau) se révèle le meilleur et est différent des trois autres, de manière hautement significative.

Les traitements T2 et T3 donnent des cafés de qualité équivalente et qui sont significativement différents des cafés issus du traitement T1 voie sèche, qui se révèle le moins bon.

TABLEAU 3

Valeurs des cotations gustatives
synthétiques de dégustation

Traitement Répétition	Cotation			
	1	2	3	4
1	6,0	5,0	3,5	3,5
2	3,5	4,0	3,5	2,5
3	3,0	2,0	4,0	3,0
4	5,0	2,5	4,5	2,5
5	5,5	4,5	2,5	3,5
6	4,0	2,5	2,5	4,0
7	4,0	4,5	4,0	2,5
8	4,0	6,0	3,5	3,5
9	5,5	3,5	4,5	3,5
10	5,5	3,5	4,0	3,0
\bar{X}	4,60	3,8	3,75	3,15

TABLEAU 4

Echelle des cotations gustatives de synthèse

Signe conventionnel	Cotation numérique	Signification
TB	1	Très bonne tasse
B	2	Bonne tasse
A +	3	Tasse acceptable se rapprochant de B
A	4	Tasse acceptable
A -	5	Tasse acceptable se rapprochant de M
M	6	Mauvaise tasse
TM	7	Très mauvaise tasse
I	8	Inconsommable

ÉTUDE DES TENEURS EN CAFÉINE, TRIGONELLINE ET ACIDES CHLOROGÉNIQUES TOTAUX

Nous avons d'autre part effectué le dosage de la caféine, de la trigonelline et des acides chlorogéniques totaux sur tous les échantillons de café vert afin de rechercher une influence éventuelle des divers traitements sur ces constituants.

La caféine a été dosée par la méthode de KUM-TATT (21) modifiée par nous, en ce sens que nous utilisons, pour déplacer la caféine, l'ammoniaque concentré et que dans ce cas précis de comparaison d'un grand nombre d'échantillons, les extraits chloroformiques obtenus ont été mesurés directement au spectrophotomètre après dilution, sans purification par passage sur une colonne d'alumine activée.

La trigonelline a été dosée sur le résidu de l'extraction chloroformique, ainsi débarassé de la caféine. Ce résidu a été extrait à ébullition par l'acide chlorhydrique 0,2 N. Puis la solution d'extraction contenant la trigonelline et l'acide chlorogénique a été purifiée (par rétention de ce dernier) sur une colonne de résine anionique. La trigonelline du filtrat a été déterminée par spectrophotométrie dans l'U. V. à 265 nm, avec correction de ligne de base à 250 et 280 nm.

Les acides chlorogéniques totaux ont été dosés par la méthode de LEHMANN et al. (22, 23, 24), qui consiste à extraire les acides chlorogéniques par du méthanol à 70 %, puis à les purifier par adsorption sur une colonne de poudre de polyamide suivie d'une élution par du méthanol basique ; la détermination des acides chlorogéniques totaux s'effectuant par mesure spectrophotométrique de l'éluat à 324 nm.

Les tableaux 5 (caféine), 6 (trigonelline) et 7 (ac. chlorogéniques totaux) récapitulent les résultats obtenus.

TABLEAU 5

**Teneurs en caféine en pour cent en masse
de matière sèche**

Traitement n mesures x_i	1	2	3	4
1	2,100	2,080	2,230	2,150
2	2,160	2,330	2,330	2,180
3	2,230	2,170	2,180	2,300
4	2,195	2,100	2,080	2,140
5	2,100	2,210	2,100	2,060
6	2,255	2,190	2,010	2,080
7	2,160	2,110	2,155	2,130
8	2,325	2,310	2,190	2,320
9	2,455	2,350	2,320	2,370
10	2,080	2,180	2,190	2,270
Moyenne \bar{X} ...	2,206	2,203	2,178	2,200

Le test de HARTLEY appliqué à ces séries de déterminations ne montre aucune différence significative due aux divers modes de préparation.

L'un d'entre nous continuera la présente étude par la séparation des divers acides chlorogéniques, éventuellement de leurs produits d'hydrolyse, etc...

TABLEAU 6

**Teneurs en trigonelline en pour cent en masse
de matière sèche**

Traitement n mesures x_i	1	2	3	4
1	0,680	0,705	0,650	0,700
2	0,710	0,660	0,695	0,690
3	0,740	0,640	0,730	0,720
4	0,730	0,710	0,700	0,675
5	0,600	0,630	0,570	0,670
6	0,690	0,700	0,720	0,705
7	0,690	0,720	0,660	0,710
8	0,700	0,730	0,695	0,675
9	0,670	0,700	0,625	0,670
10	0,640	0,620	0,630	0,610
Moyenne \bar{X} ...	0,685	0,681	0,667	0,682

TABLEAU 7

**Teneurs en acides chlorogéniques totaux
en pour cent en masse de matière sèche**

Traitement n mesures x_i	1	2	3	4
1	9,25	9,70	9,65	9,30
2	7,20	8,80	10,20	8,80
3	8,40	9,60	8,20	9,10
4	7,90	8,20	9,60	9,90
5	8,55	9,80	7,65	8,30
6	10,00	8,30	9,90	10,00
7	10,20	9,10	9,65	9,30
8	8,65	10,30	8,00	8,70
9	9,50	9,70	9,30	9,70
10	8,90	10,70	10,30	9,90
Moyenne \bar{X} ...	8,85	9,40	9,20	9,30

CONCLUSIONS

Les méthodes de préparation utilisées lors de ces essais n'ont pas eu de répercussions sur l'aspect physique du café vert, tout au moins en ce qui concerne les défauts comptabilisés dans les expertises.

Par contre, la qualité du café à la tasse est nettement influencée par le mode de préparation. Dans tous les cas de traitement par voie humide, on constate une nette amélioration organoleptique par rapport à la voie sèche.

Le traitement par voie humide permet selon le cas une amélioration de la qualité de 1 ou 1 ½ point de notre barème (tableau 4).

L'utilisation de la voie sèche donne dans chaque cas un café à odeur désagréable, de goût en général « mal-propre » ou défectueux. Cependant, ce fait est également relevé sur des échantillons issus de la préparation T3 sans fermentation.

Si on établit un classement par ordre décroissant de qualité, on obtient :

1. Café dé mucilaginé rapidement et mis à tremper 24 h (T 4) : tasse plus qu'acceptable.
2. Café dé mucilaginé rapidement non fermenté (T 3) et café fermenté à sec (T 2) : tasse acceptable.
3. Café voie sèche (T 1 ou témoin) : tasse moins qu'acceptable se rapprochant de mauvaise tasse.

Nous n'avons constaté aucune variation significative des teneurs en caféine, trigonelline ou acides chlorogéniques totaux. Ceci semble montrer qu'une immersion de 24 heures dans l'eau ne provoque aucune diffusion de ces constituants, du grain vers l'eau de trempage. Les modifications réelles constatées en ce qui concerne les qualités organoleptiques sont donc vraisemblablement sans liaison avec les teneurs en caféine, trigonelline et acides chlorogéniques totaux qui ont été dosés. Ces recherches sont donc à poursuivre.

BIBLIOGRAPHIE

1. VON LILIENFELD-TOAL. — *Zentralbl. f. Bakt.*, 2, 85, p. 250 (1932).
2. V. A. BECKLEY. — *Agric. Dpt. of Kenya*, n° 8 (1930).
3. P. A. ROELOFSEN. — *Archief Koffiecult. Ned. Indie*, XIII, 3, p. 151 (1939).
4. R. WILBAUX. — *Publ. INEAC, Série Techn. N° 13*, (1937).
5. — — *Publ. INEAC, Série Techn. N° 21* (1938).
6. — — *Technologie du Café*. Ed. Minist. des Colonies, Bruxelles (1956).
7. C. S. PEDERSON et R. S. BREED. — *Food Res.*, 2, p. 99 (1946).
8. H. JACOBS et H. P. LEPP. — *De Bergculture*, 9, p. 223 (1956).
9. D. S. BOYCE. — *J. Agric. Puerto Rico*, 46, p. 334 (1962).
10. E. M. CASE. — *Coffee Board of Kenya Month. Bull.*, II, 17, p. 93 (1936).
11. A. E. WOOTTON. — 2^e Colloque Intern. Chimie des Cafés Verts et Torréfiés, p. 247, Paris, 3-7 mai (1965).
12. A. E. WOOTTON. — 3^e Colloque Intern. Chimie des Cafés Verts et Torréfiés, p. 398, Trieste, 2-9 juin (1967).
13. R. DE CAMARGO et A. DE QUEIROZ TELLES Jr. — *O Café no Brazil*, vol. II, Rio de Janeiro (1953).
14. A. A. BITTANCOURT. — *Bol. Superintendencia dos. Serv. do Café*, 359, p. 7 (1957).
15. J. C. MEDCALF, W. L. LOTT, P. B. TEETER et R. L. QUIN. — *Coffee Processing in Brazil*, IBEC Research Inst., New York, p. 30 (1955).
16. A. TOSELLO. — *Bol. Superintendencia dos. Serv. do Café*, 364, p. 8 (1957).
17. R. WILBAUX. — Le séchage du café en cerises, 1^{er} Congrès Intern. Ind. Agric. et Alim. Zones Trop. et Sub. Trop., Abidjan, 13-19 décembre 1964.
18. — — *Annales de la Nutr. et de l'Aliment.*, XVIII, 6 A. 537 (1965).
19. In S. SIEGEL. — *Non Parametric Statistics for Behavioral Sciences*, New-York, p. 166 (1956).
20. R. A. FISHER et F. YATES. — *Statistical tables for biological, agricultural and medical research*, 6^e Ed., Londres (1963).
21. L. KUM-TATT. — *Analyst*, 86, 825-828 (1961).
22. G. LEHMANN, H. G. HAHN, P. MARTINOD. — *Dtsch. Lebensm. Rdsch.*, 63, 5, 144-151 (1967).
23. — — H. G. HAHN, O. LUZURIAGA. — *Dtsch. Lebensm. Rdsch.*, 63, 9, 273-275 (1967).
24. — — H. G. HAHN. — 3^e Colloque Intern. Chimie des Cafés Verts et Torréfiés, p. 115, Trieste, 2-9 juin 1967.

CHASSEVENT (F.), VINCENT (J.-C.), HAHN (D.), POU-GNEAUD (S.), WILBAUX (R.). — **Etude de relations éventuelles gustatives ou chimiques en fonction de la préparation du café Robusta au stade primaire.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 179-185, tabl., réf.

Du café Robusta a été préparé, au Cameroun, selon quatre procédés différents (10 répétitions) :

1) voie sèche, au soleil ; 2) voie humide, avec fermentation naturelle, lavage et séchage solaire ; 3) voie humide, avec démulcination par la soude, lavage et séchage solaire immédiat ; 4) voie humide comme ci-dessus, mais de plus trempage de 24 h dans l'eau après lavage.

Les variantes de traitement n'ont pas montré de différences significatives dans l'aspect du café vert, mais à la dégustation le traitement n° 4 est significativement meilleur.

Il n'y a pas de différences significatives entre les préparations n° 2 et n° 3, mais la préparation n° 1 fournit du café dont la valeur à la tasse est significativement inférieure à celle des autres préparations.

Des variations systématiques éventuelles quant aux teneurs en caféine, trigonelline et acides chlorogéniques totaux ont été étudiées.

CHASSEVENT (F. C.), VINCENT (J. C.), HAHN (D.), POU-GNEAUD (S.), WILBAUX (R.). — **Study of eventual gustative or chemical relations as a function of the preparation of Robusta coffee at a primary stage.** — Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 179-185, tabl., réf.

Robusta coffee has been prepared in the Camerouns according to four different processes (10 repetitions) :

1) Dry method : sun-drying.
2) Wet method with natural fermentation, washing and drying in the sun.
3) Wet method, with removal of mucilage by sodium hydroxide, immediate washing and drying in the sun.
4) Wet method as above but in addition : soaking for 24 hours in water after washing.

The variations in treatment have not shown any significant differences in the aspect of the green coffee, but from a gustative point of view preparation n° 4 is definitely the best.

There are no significant differences between preparations n° 2 and n° 3, but preparation n° 1 supplies a coffee, the cup-value of which is significantly lower than that of the other preparations.

Possible systematic variations in total caffeine, trigonelline and chlorogenic acid contents have been investigated.

CHASSEVENT (F.), WILBAUX (R.), VINCENT (J.-C.), HAHN (D.), POU-GNEAUD (S.). — **Untersuchung der eventuellen Geschmacks- oder chemischen Beziehungen in Abhängigkeit von der Aufbereitung des Robusta Kaffees im Primärstadium.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 179-185, tabl., réf.

Robusta Kaffee wurde im Kamerun nach vier verschiedenen Verfahren (10 Wiederholungen) aufbereitet :

1) Trockene Aufbereitung in der Sonne.
2) Nasse Aufbereitung mit natürlicher Fermentation, Waschen und Trocknen in der Sonne.
3) Nasse Aufbereitung mit Entschleimung mittels Natronlauge, Waschen und sofortiges Trocknen in der Sonne.
4) Nasse Aufbereitung wie oben sowie Einweichen während 24 Stunden im Wasser nach vorherigem Waschen.

Die Behandlungsvarianten zeigten keine signifikanten Unterschiede im Aussehen des Rohkaffees, beim Genuss jedoch erweist sich die Aufbereitung 4) signifikant besser.

Es bestehen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Aufbereitungen 2) und 3) aber die Aufbereitung 1) gibt einen Kaffee dessen Wert bei der Tasse signifikant geringer ist als jener der anderen Aufbereitungen.

Eventuelle systematische Veränderungen was den Gehalt an Coffein, Trigonellin und Gesamtchlorogensäuren anbelangt wurden untersucht.

DISCUSSION

M. KADEN : Ich danke Fräulein Chassevent für ihr Referat und ebenso allen Herren, aus dem I. F. C. C., die an dieser viel Sorgfalt und viele Einzelbeobachtungen erfordernden Arbeit mitgewirkt haben. Die chemischen Verhältnisse bei den unterschiedlichen Aufbereitungsarbeiten von Rohkaffee hinsichtlich Koffein, Trigonellin und Chlorogensäure erscheinen mir durch die Ergebnisse weitgehend aufgeklärt. Sie weisen ebenfalls den Weg für weitere Untersuchungen, die geschmacklichen Unterschiede der Aufgüsse von Kaffeepartien oder auch Röstkaffeemischungen durch chemische Untersuchungen untermauern und beurteilen zu können.

Es ist erwähnt worden, dass die Aufgüsse trocken aufbereiteter Kaffees minderwertiger sind als die der nass aufbereiteten. Dies ist vor allem darauf zurückzuführen, dass bei der Trocknung der ganzen Kaffeekirschen die Bohnen tagelang in der gärenden Kaffeepulpe verbleiben. Diese Pulpe enthält viel Zucker und auch Eiweiss. Während der Lagerzeit liegen die Kaffeekirschen bekanntlich nachts in mit Planen zugedeckten Haufen. Die Folge davon ist, dass die Temperaturen des gärenden Fruchtmuses über 50° C ansteigen, wodurch die Bohne bzw. der Same abstirbt und seine Zellen für von aussen eindringende Gärstoffe aufnahmefähig werden. Darunter befinden sich die schlecht riechenden und schlecht schmeckenden Eiweissabbauprodukte.

Man braucht sich also nicht zu wundern, dass in trocken aufbereiteten Arabica-Bohnen z. B. aus Brasilien in der Regel solche zu finden sind, die beim Aufbrechen nach dem Rösten übel riechen und auch zu schlecht schmeckenden Kaffeenaugüssen führen. Man kann sie als faule Bohnen bezeichnen. « Stinker » sind es nicht. Echte « Stinker » finden

wir jedoch oft in den trocken aufbereiteten Robusta-Partien, wenn sie aus Eingeborenen-Pflanzungen stammen. Diese Bohnen sind unterschiedlich reif und vielfach schon überfermentiert, d. h. angefault, was besonders ins Gewicht fällt. So habe ich in einer Arbeit « *Analyses chimiques comparatives des qualités de café torréfié obtenues par triage photo-électrique* », die ich vor einiger Zeit in der Zeitschrift « *Café. Cacao. Thé* » veröffentlichte, durch vergleichende Analysen trocken aufbereiteter Kaffeebohnen festgestellt, dass sich die faulen bzw. « *Stinker* »-Bohnen von den normalen durch einen höheren Anteil an schwefelhaltigen Abbauprodukten des Eiweisses unterscheiden. (*Café, Cacao, Thé*, 1964 Nr. 3.)

M. WILBAUX : Je voudrais préciser que le cas auquel vous avez fait allusion, c'est-à-dire les récoltes mal faites, comportant à la fois du vert, du mûr et du sur-mûr, pratiquées par des planteurs africains, ne s'applique pas ici.

Dans le cas présent, les essais ont été conduits par M. Vincent dans des plantations industrielles, et il a veillé à ce que la récolte soit homogène et ne comporte que des cerises rouges à maturité convenable.

Par ailleurs, la charge au m² a été ramenée intentionnellement à 20 kg ; au début il y a une perte de poids moins rapide si la charge est de 40 kg, mais au bout de 9-10 jours, tout s'égalise.

On peut considérer que lors de la préparation par voie sèche, à un certain taux d'humidité se trouve la période dangereuse où des micro-organismes néfastes se développent. Cette période est variable selon l'épaisseur de la couche, les conditions atmosphériques étant les mêmes. Mais au bout de 9 jours, toutes les courbes se rejoignent et deviennent asymptotiques. On peut encore observer des pertes d'eau minimes pendant 5-6 jours.

THE EFFECT OF ROASTING TECHNOLOGY ON THE SURFACE ACTIVITY OF COFFEE

L. TELEGDY-KOVÁTS, M. KELEMEN-SZILAS

Institute of Food Chemistry, Technical University, Budapest

The accelerated work rhythm of our age requires mental alertness easy to maintain — without harm to the health — by the method known since centuries : by drinking coffee. Coffee beverage with its stimulating caffeine content and flavour substances evolved during roasting is not a medicine, but a food proper suitable to stimulate mental abilities to their best (1).

The quality of coffee beverage is influenced decisively by both the quality of the raw coffee and by the mechanism of chemical changes during roasting and percolating. Roasting technology may at the same time also affect the keeping quality of the roasted coffee bean. Our previous studies (2,3) demonstrated definitely, that raw coffees of poor quality still can yield very tasty and aromatic beverages if treatment and technology were adequate. From these observations it is quite

clear, that a most essential requirement for up-to-date roasting technics is to provide at least for two parameters : for a maximal content of water-extract and flavour, furthermore for a high keeping quality of the finished product.

There are several reports (4-7) of investigations concerning the origin of « stale » taste and smell which develop in spite of a relatively short storage time of the roasted coffee. Recent analytical methods e. g. gas-chromatography and its combinations are being applied to find out among the — to our present knowledge — some 300 components of coffee aroma those compounds responsible for the disadvantageous changes, and to find out ways to prevent the alterations, because the whole problem is of extreme importance and urgency for the coffee trade and industry.

EXPERIMENTS

Connected with these problems the scope of our present research was to find out which of the analytical methods is suitable to demonstrate quality differences between samples of one and the same coffee roasted by different technics. For this purpose physical and chemical changes of coffee samples roasted conventionally or by infrared heating have been observed at every 10° C temperature-elevation. Determinations of water content, water-soluble extract and roasting loss have been carried out by NAVELLIER'S method (8,9). The evolving brown colour was controlled with a Lovibond Tintometer. Finally, to determine the surface activity of the roasted bean a new method has been elaborated based on the observation that in storage tests the coffee roasted by infrared heating kept its good quality much longer than the samples roasted conventionally.

Considering it from energetical aspects the surface of coffee bean is inhomogeneous. Due to surface

geometrical differences spots of higher or lower adsorption capacity occur, binding more or less of the CO₂ developed during roasting. An up-to-date roasting technology aims, of course, to increase the active spots, to enhance the surface activity. It is, however, necessary to measure the surface activity by a relatively simple, easy method. Accordingly we tried to apply our new method to determine the surface activities of coffee samples roasted differently and to use these characteristics as new parameters for different roasting technics.

The specific surface of solids — among them that of coffee beans, instant coffee, etc — has been studied previously by SPIESS *et al.* (10). According to their definition, under specific surface is meant the total of external and internal surface of a product, referred to unit weight ; internal surface being the total surface area formed by the limiting solid material and the included voids, pores. Knowledge of the specific surface of a

product is of importance for any reaction taking place between solid and gaseous phases as for an oxidation process, e. g. during roasting.

Our determinations were based theoretically on the BRUNAUER, EMETT and TELLER equation, which yields results in good agreement with those of other surface determination methods, and it is suitable to describe adsorbents of relatively smooth surface and wide pores. For tight pored products, however, the B. E. T. isotherms are not of practical use, not even for comparison purposes. Now our experiments concerning the determination of coffee surface, coffee surface activity can be summed up briefly, as follows :

Provided the active carbon-like surface of the coffee develops during roasting so that differently sized pores arise (depending of the temperature of that spot and in function of that spot and in function of the technology applied), then size and size-increase of these active pores can be demonstrated, either by the measurement of the surface or by the determination of the increasing surface activity.

Adsorption capacity of active carbon can be determined by methylene blue adsorption (11). Adsorptivity increases linearly with the amount of methylene blue added, up to a pigment excess where it becomes constant. At this point the adsorbed methylene blue will amount to the difference between added and non-adsorbed quantities of methylene blue. The amount of non-adsorbed methylene blue then can be determined easily. In this process 1 mg of adsorbed methylene blue corresponds 1 sq. m. of active surface.

Preliminary tests served to determine the coffee sample of optimal volume size to be weighed, the optimal concentration of methylene blue solution applied, and the most advantageous time of contact. The final tests have been made by means of three different methods : by photometry (with an Uvifot photometer), by colorimetry (with the Lovibond Tintometer) and by titration with a 0.15 % solution of crystal-ponceau.

The actual method consisted in adding 1 ml of 0.15 %

methylene blue solution from a micro-burette and 50 mls of d. water to a sample of roasted coffee weighed, corresponding to 10 grs of raw coffee into a 100 mls glass-stoppered Erlenmeyer flask, agitating several times and keeping it at room temperature for 16 hours. It was then filtered through a crimped filter, and the non-adsorbed amount of the methylene blue added in excess determined by one of the methods mentioned above.

Determinations can be disturbed by the following influences :

1) Coffee oil diffusing to the surface, especially by roasting at higher temperatures, prevents to a certain degree the methylene blue adsorption from its solution in water. Previous extraction of fat with petrol-ether leads to a considerable dispersion of values measured and that can be attributed to the adsorption of petrol-ether by some of the active spots, so preventing methylene blue adsorption. According to our experience the best fat-solvent to be used is acetone, which does not interfere with methylene blue adsorption. The coffee samples are to be defatted twice with acetone before the determination of surface activity is done.

2) Undue prolongation of contacting time can also cause troubles ; samples standing 24-48 hours gave very dark filtrates dissolving the brown substances evolved especially at 180° C roasting temperature or above. Thus such filtrates could not be measured without being diluted. The contacting time of 16 hours secured reproducible, even results.

With the Uvifot photometer the best results were obtained at 578 nm wave length ; the Tintometer gave very reliable data if used properly. In the third method the retitration of the methylene blue excess was made with a 0.15 % solution of crystal-ponceau, end point being indicated by a pink ring around a drop of liquid placed on filter paper. Reference point for each determination was the methylene blue adsorption of the raw coffee tested before and after roasting.

DISCUSSION AND EVALUATION OF THE RESULTS

Data obtained with samples taken at every 10° C temperature-increase during the roasting are shown in diagrams 1-6 (p. 188-189). First the quantitative changes of water solubles in function of time and roasting method are shown (fig. 1). Comparison of the two extract-curves shows unambiguously the advantages of infrared roasting also theoretically established. For this latter method the quantity of water soluble extract already formed tends to increase continuously from the beginning of the pyrolysis indicating the lack of later harmful effects on the degradation products during this type of roasting. By other words, infrared roasting is charac-

terized by a continuous development of degraded soluble components and by increase of their amount within the temperature range examined, whereas in the conventional roasting part of the water solubles already developed suffer decomposition leading to nearly constant amount of extractives, representing a dynamic equilibrium of development and decomposition.

Our tests showed — as it can be seen on fig. 2, 3, 4 — that the development of the brown colour and especially the ways and manner of development are typical for the roasting technology applied. In course of infrared roasting the brown colour develops uniformly, from the

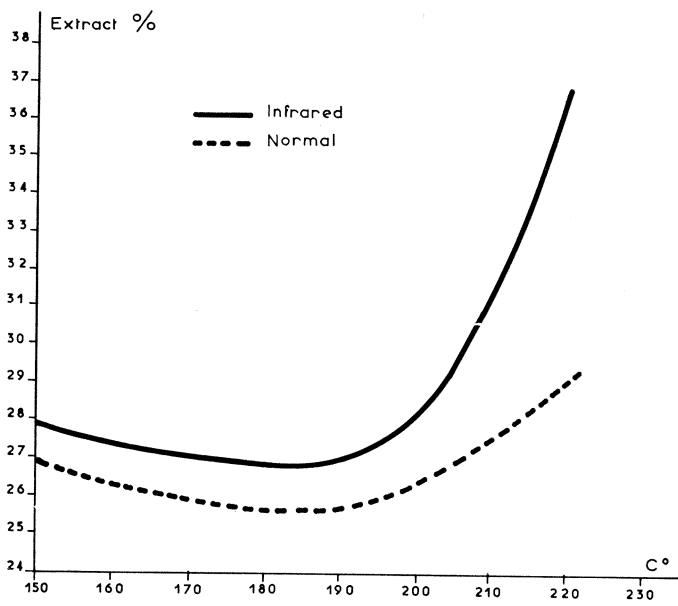


Fig. 1. — Change of water extract

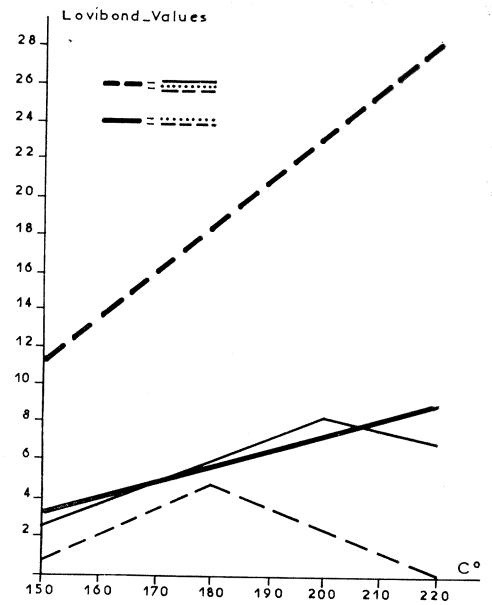


Fig. 2. — Change of colour of the coffee bean during infra-roasting

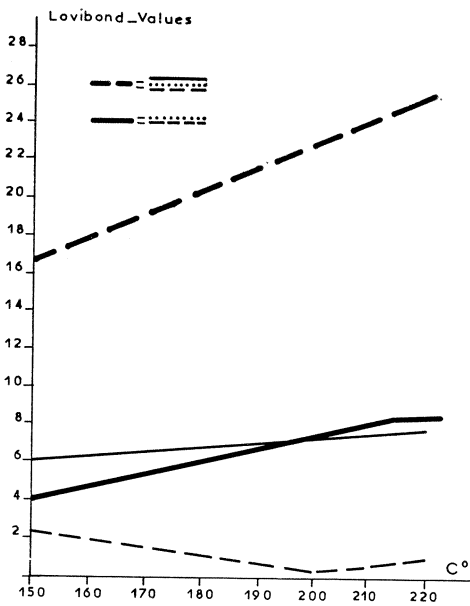


Fig. 3. — Change of colour of the coffee bean during normal roasting

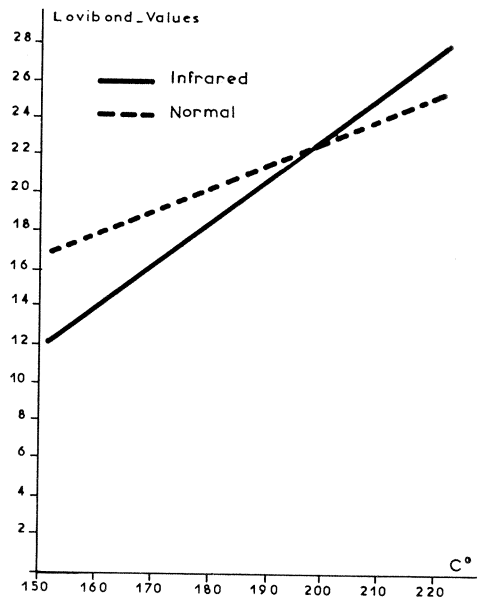


Fig. 4. — Comparison of the colour changes during infra and normal roasting

- brown
- green
- red
- - - yellow
- blue

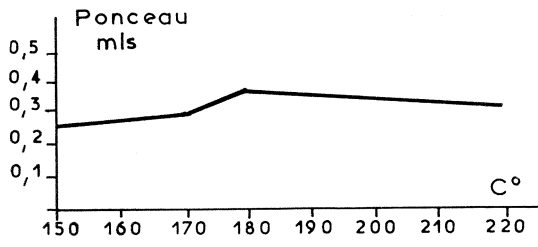


Fig. 6. — Methylene-blue adsorption of normal roasts

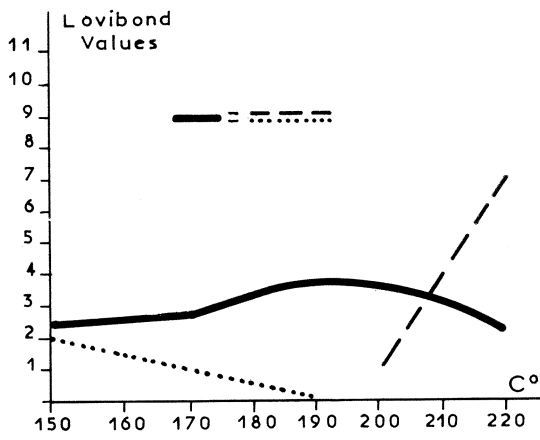
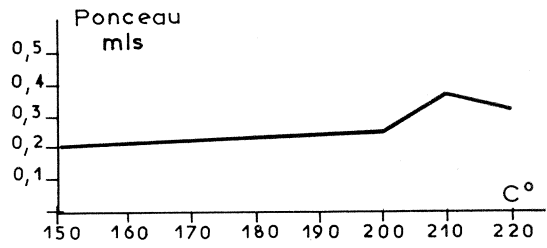
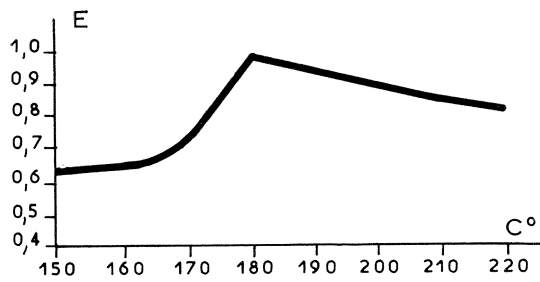
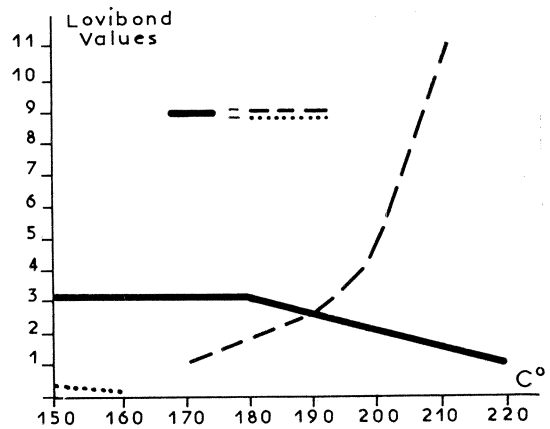
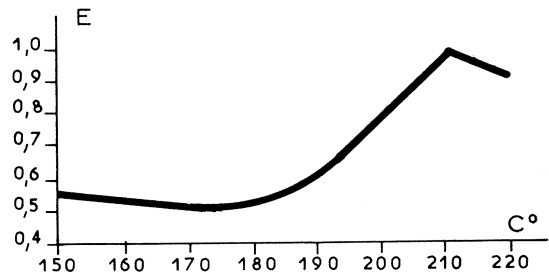


Fig. 5. — Methylene-blue adsorption of infra-roasts



beginning of roasting up to the 220° C final roasting temperature, the maximum accessible under our experimental conditions. Initial value of the colour curve for conventional roasting is higher than for infrared roasting, and indicates a significant initial decomposition of solids ; at 220° C temperature, however, it is still below the infrared value observed.

Analysis of the Lovibond components of the brown colours permits to draw other interesting conclusions, too. For instance, it is interesting to see a break in both the red and the yellow components for infrared roasting, as opposite to that for conventional roasting, indicating changes — characteristic to infrared roasting — in some coffee compounds. That is likely to present a new way of refined description for quality evolution during roasting and seems to suggest that more comprehensive studies in this respect are necessary.

From the aspect of taste and keeping quality the results referred to above are of decisive importance. If — according to our findings — the mild effect of infrared roasting results in a higher water soluble extract content than conventional roasting, it has to be assumed that this preservation effect is extended also to the flavour of the roasted coffee and to its keeping quality. And really, flavour components are affected just as mildly as it

was seen for the water soluble extract, namely as these components persist during infrared heating, the flavour formed also keeps or is but slightly influenced. On the other hand keeping quality is strictly related to the active adsorption surface evolved during roasting. Temperature increase in conventional roasting was seen to decrease surface activity, by destroying active spots. Infrared roasting is gentle in this respect, too. Surface activity test data (fig. 5, 6) corroborate our previous observations of the same nature (2), and give explanations for improved keeping quality. In the diagrams a strict correlation is seen to exist between the brown colour development, the flavour and keeping quality for each roast. A lasting flavour requires subsistence of the flavour components already developed, whereas keeping quality is a function of the surface activity due to the roasting method applied.

Thus as a final conclusion it can be stated that different quality characteristics of roasts made by different techniques can be attributed justly to different surface activities. Our methylene blue adsorption method represents an easy way, not only to determine these activities, but on basis of the active surfaces it gives possibility, to compare the advantages and disadvantages of various roasting technics.

LITERATURE

1. CIUPKA, P. — Kaffee. III. Hamburg. 1956.
2. TELEGDY-KOVÁTS, L., KELEMEN-SZILAS, M., TÖRLEY, D. — *Café Cacao Thé*, 7, 261, 1963.
3. KELEMEN-SZILAS, M. — *Die Nahrung*, 12, 17, 1968.
4. SEGALL, S., PROCTOR, B. E. — *Food Techn.*, 13, 266 ; 383, 1959.
5. SEGALL, S., PROCTOR, B. E. — *Food Techn.*, 13, 679, 1959.
6. WINTER, M. et al. — From « Aroma und Geschmacksstoffe in Lebensmitteln » 165, 1969.
7. RADTKE, R. et al. — *Zeitschr. Lebensm. Unters.*, 128, 321, 1966.
8. NAVELLIER, P., BRUNIN, R. — *Café Cacao Thé*, 5, 3, 1961.
9. COSTE, R. — *Les Cafés et les Cafés dans le Monde (loc. cit.)*, Paris, 1961.
10. SPIESS, W. E. L. et al. — *Lebensm. Rundschau*, 4, 115, 1969.
11. KRCZL, Fr. — *Untersuchung und Bewertung Technischer Adsorptionsstoffe*. Leipzig, 1931.

TELEGDY-KOVÁTS (L.), KELEMEN-SZILAS (M.). — **Influence du procédé de torréfaction sur l'activité de la surface du café.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 186-191, fig., réf.

Le but de cette étude est de trouver dans quelle mesure des différences qualitatives peuvent être mises en évidence entre des échantillons de café torréfiés de façons différentes, au moyen de méthodes analytiques.

Les changements physico-chimiques qui ont lieu au cours de la torréfaction

TELEGDY-KOVÁTS (L.), KELEMEN-SZILAS (M.). — **The effect of roasting technology on the surface activity of coffee.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A.S.I.C. (Paris), 1970, p. 186-191, fig., réf.

The aim of the study is to find out how far qualitative differences can be demonstrated between coffee samples roasted differently, by means of analytical methods. Physico-chemical changes

TELEGDY-KOVÁTS (L.), KELEMEN-SZILAS (M.). — **Einfluss des Röstverfahrens auf die Oberflächenaktivität des Kaffees.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 186-191, fig.,

Zweck der Abhandlung ist es festzustellen inwieweit qualitative Unterschiede zwischen verschiedenartig gerösteten Kaffeeproben mit Hilfe analytischer Methoden nachgewiesen werden können.

Die im Laufe des Röstprozesses statt-

ont été observés dans des échantillons prélevés pendant la torréfaction de 10 en 10° C et l'augmentation de l'activité de la surface a été déterminée. Pour ce faire une nouvelle méthode a été mise au point.

Les observations ont clairement montré que l'arôme et la durée de la conservation sont étroitement liés à la technique de torréfaction. Pour que l'arôme demeure stable, il faut que les substances aromatiques qui se sont développées demeurent intactes. La durée de conservation dépend de l'importance de l'adsorption superficielle qui résulte de la torréfaction.

La nouvelle méthode de détermination de l'activité de surface peut aussi être utilisée avec succès pour comparer l'efficacité de différents procédés de torréfaction.

of the coffee samples drawn during the roasting-process at 10° C intervals have been checked and the increase of their surface activity was determined. For this purpose a new method was developed. The observations have clearly shown that flavour and shelf-life are closely connected with the roasting technic. For stabilization of the flavour the flavouring substances developed have to remain intact ; the shelf-life is a function of the active surface i. e. of the activity of the surface-adsorption caused by the effects of roasting. The new method for the determination of the surface activity can also be successfully applied for a comparison of the effectiveness of different roasting technics.

findenden physikalisch chemischen Veränderungen wurden bei Proben beobachtet, die während der Röstung von 10 zu 10° C entnommen wurden und die Zunahme der Oberflächenaktivität wurde mit Hilfe einer neuen Methode bestimmt.

Die Beobachtungen zeigten deutlich, dass Aroma und Dauer der Konservierung eng mit der Technologie der Röstung verbunden sind. Zur Stabilität des Aromas müssen die sich entwickelten Aromastoffe unversehrt bleiben. Die Lagerungsfähigkeit hängt von der Bedeutung der oberflächlichen Adsorption ab, die sich aus der Röstung ergibt.

Die neue Bestimmungsmethode für die Oberflächentätigkeit kann auch erfolgreich zum Vergleich der Wirksamkeit verschiedener Röstverfahren benutzt werden.

DISCUSSION

M. KADEN : Diese für uns völlig neuen Forschungsergebnisse von Herrn Prof. L. Telegdy-Kovács und Frau M. Kelemen-Szilas werden gleichfalls dazu beitragen, künftig die Qualitätsunterschiede von Kaffee auf chemischem Wege kritischer als bisher zu beurteilen. Diese Art der Bewertung wird neuerdings immer aktueller, da wir auf dem internationalen Kaffeemarkt allgemein eine Verschlechterung der Röstkaffee-Mischungen erleben und es darauf ankommt, sie möglichst zu stoppen.

Jedenfalls kann ich das aus meinen Beobachtungen für die Bundesrepublik sagen, wo ich schon sehr lange Qualitätsbeurteilungen durchführe und leider einen Rutsch von den früheren Edelkaffee-Mischungen zu schlechten Konsumkaffeemischungen feststellen muss.

SIEVE ANALYSIS OF FINELY GROUND COFFEE

TH. VAN VEEN, J. H. VREESWIJK

D. E. J. International Research Company N. V., Utrecht

The process of grinding the roasted coffee beans is an important stage in the procedure of making a coffee beverage. Making coffee from unground beans is quite impossible, at least very time consuming. The hard fibrous surface of the roasted coffee bean, and also the fact that it is coated with an oily layer, prevents a good contact between coffee and water. And this good contact is necessary to dissolve and extract the materials in the bean. So grinding is of vital importance, not only as a kitchen-operation, but also as an intermediate stage in the instant coffee manufacture, or as a final stage in the preparation of ground coffee. The ground coffee is not a consumable end product in itself. It has to be present in a physical form best suited for its optimal extraction with hot water, by whatever brewing apparatus we choose or whatever equipment is used by the manufacturer of the instant coffee.

For an optimal resulting coffee brew every method of brewing should require the use of ground coffee of different degrees of grind. The so called saucepan brewing method, an old fashioned but still very popular way of making coffee, requires a rather coarse grind, because of the rather long contact time between the hot

water and the ground coffee. A very fine grind will result in an unpleasant bitter taste of the brew. For the same reason the coffee, used in the percolating method, must be rather coarse. On the other hand, in espresso coffee making the particles must be very fine, in order that sufficient extraction in the short time available occurs in an once-through operation assisted by slight water pressure.

Between these two methods there is the filtration method. Two ways of applying this method can be distinguished. In slow filtration, boiling water is added in small portions, while in the fast way the water is added in a once-through operation. It will be clear that the coffee must be ground more finely in the last case to get a sufficient extraction. A modern version of this «fast filtration method» is the filtration through a Y-shaped filter paper bag. The extraction time is very short, the filtration surface proportionally large, and so the particles should be very small, the coffee must be ground very finely. This way of coffee-making is going to be very popular. Several manufacturers of ground coffee bring a special grind on the market suitable for this brewing method.

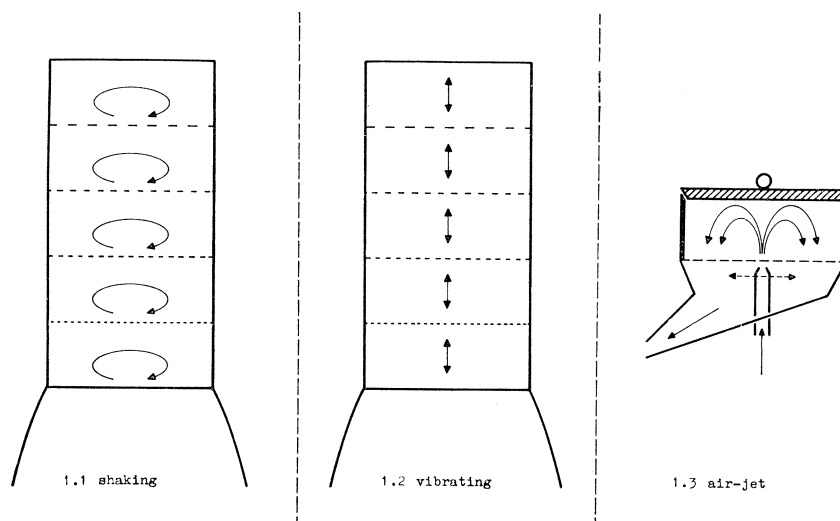
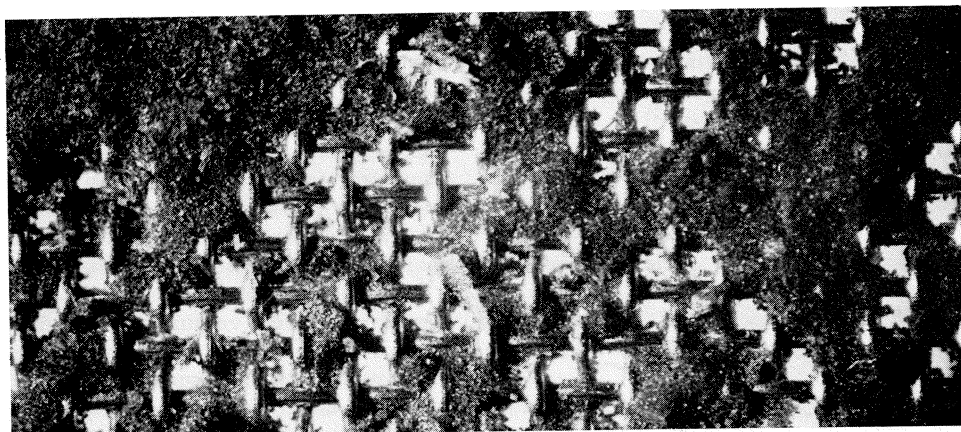
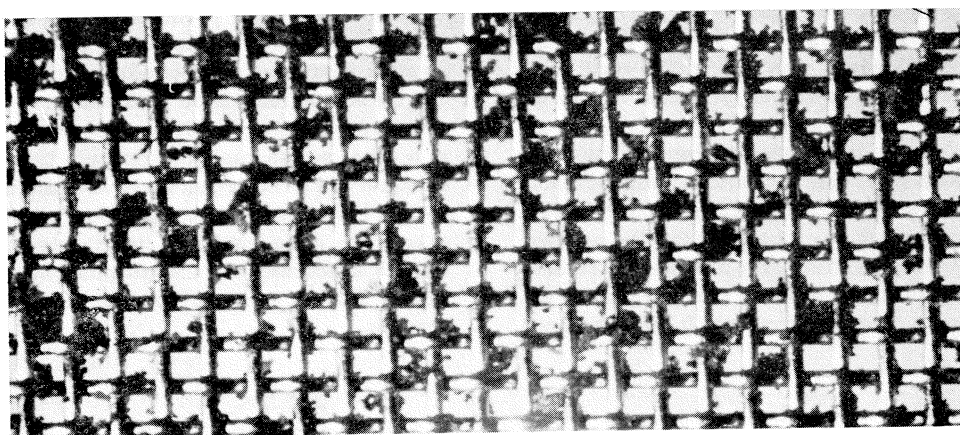


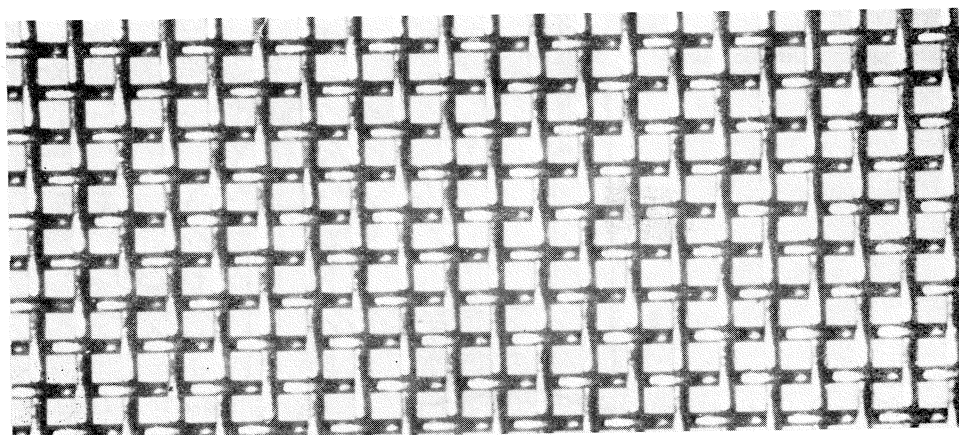
Fig. 1. — Sieve principles



A. Screen 0.1 millimeter, blinded with coffee particles



B. Cleaned with a brush



C. Cleaned with an air-jet

Fig. 2. — *Fine screen, blinded and cleaned*

Roasted coffee has in fact to be ground according to specified particle size distribution. Both for the quality control of the ground coffee and for the adjustment of the coffee granulizers it is very important to have at our disposal a way of determining the size of the product resulting from the grinding operation. In general we can use several types of sieve devices available, based on more or less different principles. Fig. 1 represents some of these principles in diagram. Figure 1.1 and 1.2 give well-known devices, on which a pile of screens is moved in a circular rotating direction or in a vertical direction. Figure 1.3 gives the principle of the so called air-jet sieve, in which an air-jet blows through the product on a single screen.

In the first two cases we put an accurately weighed sample upon the upper screen, the coarsest one. After a certain sieving time the quantities of sample retained on the different screens are weighed again. So we will get some information about the particle size distribution of the sample. Unfortunately this way of sieving is not very satisfactory for the finer fractions of the ground coffee. Coffee particles are a bit cloggy. The small particles will adhere easily to the bigger ones and to the screen itself. They will blind the openings of the screens and bigger particles, which would normally pass this particular screen, will be retained now. Softly brushing the screens, the so called «Pinsel» method will be a small improvement, but it will be clear that the partition will be more or less arbitrary now and the fine screens will be deformed soon. Besides, the cleaning of the blinded screens is quite a difficult job. It has to be done

with a clean and oil-free airstream with a pressure of about six atmospheres. Fig. 2 shows a fine screen, blinded with coffee particles, after it has been cleaned with a brush and an air-jet.

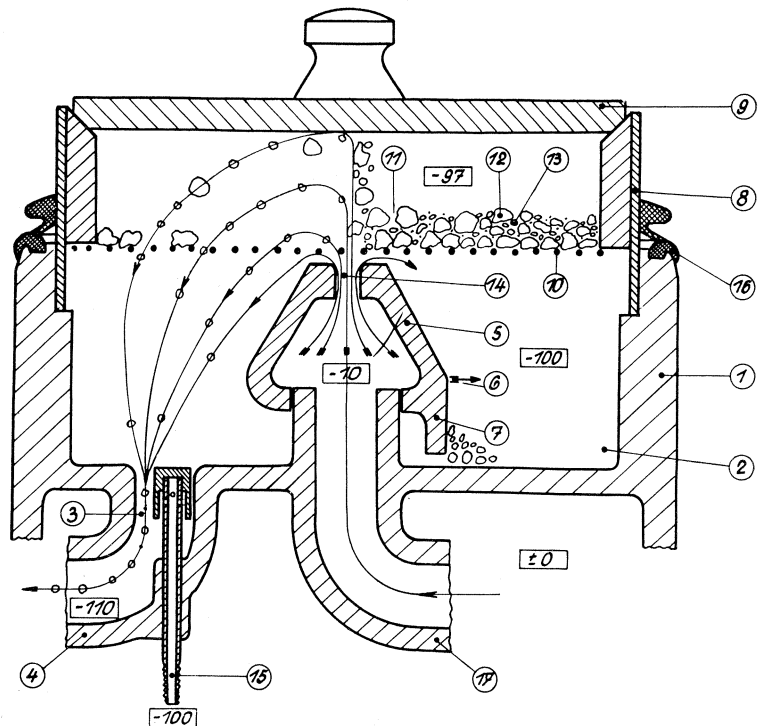
In view of the trend to finer ground coffee it is of vital importance to have a reproducible sieving method, satisfactory for very fine particles as well. That is the reason why we tested a new type of sieve device, based on quite a different principle. The explanation of the operation of this device on the basis of a cross-section is given in fig. 3. The screen is in a closed sieve-house, in which is a slight vacuum, generated by an ordinary vacuum cleaner. Through a rotating airslit just under the screen air from the surroundings will blow through the screen and through the material upon it, in this case the finely ground coffee.

The particles will be blown up by the air stream and the finer particles will pass the screen with that air stream. They will be held in the sack of the vacuum cleaner. The bigger particles will be retained on that particular screen. Because of the turbulence of the particles the finer ones will not adhere to the bigger ones, and the separation will be quite sharp.

In this particular device we can use only one screen at a time, so we can perform only one separation at a time. It will be clear that we have to divide our sample in some portions, the composition of which must be exactly the same, as far as the division of the particle sizes is concerned. To that purpose we used a Retsch sample divider, which divides the sample in eight equal portions.

Fig. 3. — Cross-section Alpine air-jet sieve device

1. Sieve house
 2. Tray
 3. Exhaust slit
 4. Vacuum connection
 5. Air-nozzle
 6. Moving-direction
 7. Scraper blade
 8. Sieve
 9. Lid
 10. Screen
 11. Product layer
 12. Coarse particles
 13. Fine particles
 14. Air-jet
 15. Manometer connection
 16. Gasket
 17. Air inlet
- 100 Vacuum in millimeters water



The complete sieve analysis goes as follows :

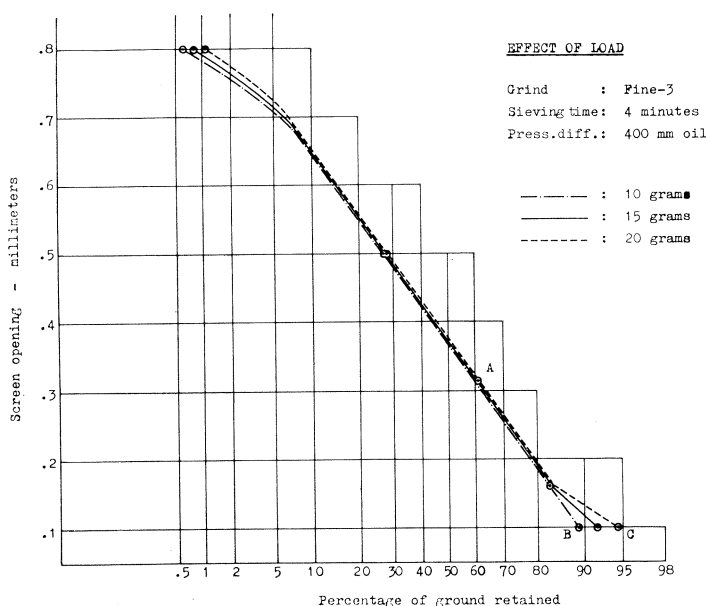
After division of the sample in eight parts, the first part is weighed accurately, and so is the first clean sieve. The sieve is loaded with the first portion of the sample and put in the sieving machine. The machine is covered with a perspex lid. The sieving time and the pressure difference, that is to say the slight vacuum, are adjusted, and the machine is started. At the end of the sieving period the screen with the product, which is retained, is weighed again. These actions are repeated with all other portions of the sample, with different screens of course. So we get a list of weighing data, which can be written as a complete sieve analysis report.

To find the optimal conditions for the air-jet sieve device, we investigated the influence of some of the variable parameters on the results, namely:

- a. the loading of the screen, the quantity of the sample,
- b. the sieving time,
- c. the pressure difference, that is to say the vacuum in the device.

To determine the influence of the loading of the screens we performed a serial of sieve analyses with different quantities of sample on the screens. The sieving time and the vacuum remained constant. Fig. 4 gives a graphic representation of the results. Let us give a little explanation of this kind of diagrams first. Abscissas show the percentage of the sample retained on a particular screen. Ordinates show the size of the screen opening.

Fig. 4. — Effect of load



Let us for instance look at point A. It means, that in the three cases about 61 % of the sample will be retained by a screen with a mesh size of 0.315 millimeters.

If we execute the analysis with a sample of 10 grams, about 89 % of the sample will be retained on the screen with a mesh size of 0.1 millimeters (point B). That means that eleven percent will pass that screen. Only seven percent will pass this particular screen if we sieve a sample of 20 grams (point C). It will be clear that we must prefer a loading of 10 grams. In general, the more on the left the point in the representation, the better the sieve analysis, if we start with exactly the same sample of course. So we can say that the smaller the loading of the screens, the better the results of the analysis will be. On the other hand, the weighing error will be the greatest here. We decided to use charges of 15 grams ground coffee with our further experiments.

Fig. 5 (p. 196) represents the results of our investigations of the optimal sieving time. At the left the results of sieving three different grinds with one particular screen. At the right the results of a sieve analysis of one grind with three different screens. Abscissas show the sieving time, the ordinate gives the percentage of the particles which pass the respective screens. The lines which show the relation between sieving time and the quantity of material passed through the screens become straight and nearly horizontal after a sieving time of about three to four minutes. The slope of this line does not become exactly zero. That is caused by the fact that the sieve-ability of the particles, the size of which is about the mesh of the screen, depends slightly on the direction of those particles. So the results of a sieve analysis will be acceptable after four minutes. We took this as a parameter in our analyses.

Finally we investigated the influence of the pressure-difference on these sieving results. We executed some analyses of a given sample at three different pressures, namely, 120, 200 and 400 millimeters. The results are represented in fig. 6. You see the influence is quite small, again except for the very fine particles. A pressure difference of 400 mm will be most satisfactory. This corresponds with results of another experiment, which are given in fig. 7. A given sample is sieved on three different screens at three different pressures. The slope of the lowest line is the greatest, which means that the influence of the pressure difference is the greatest for small particles. In view of this slope the separation might be better with greater pressure differences, but that was not possible with this technical set up. So we performed our analyses with a pressure difference of 400 mm.

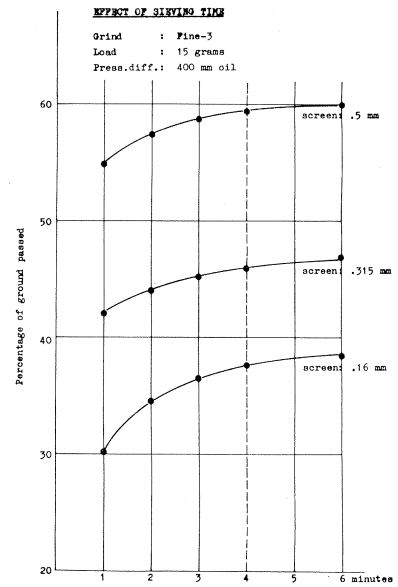
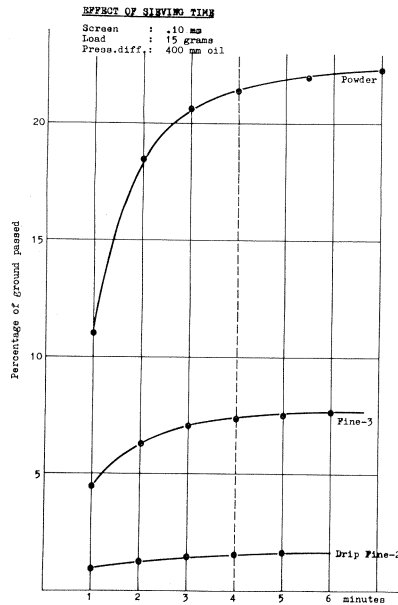


Fig. 5. — Effect of sieving time

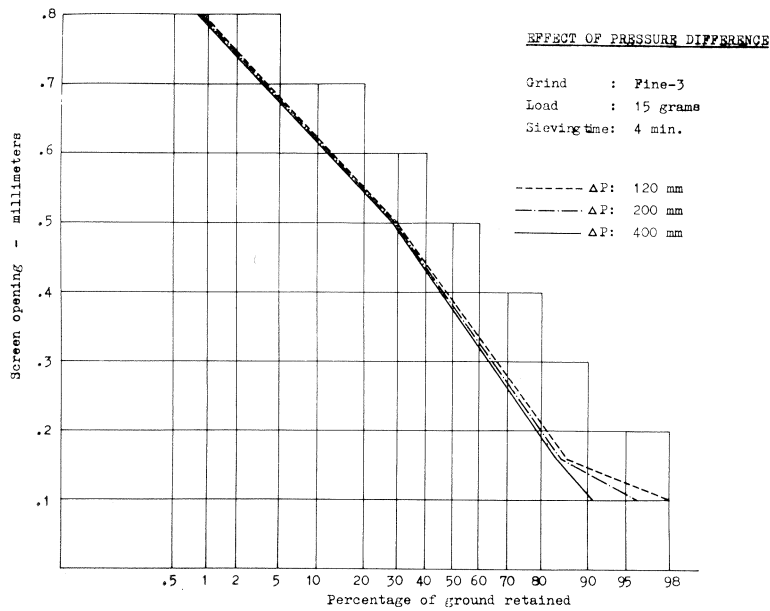


Fig. 6. — Effect of pressure difference

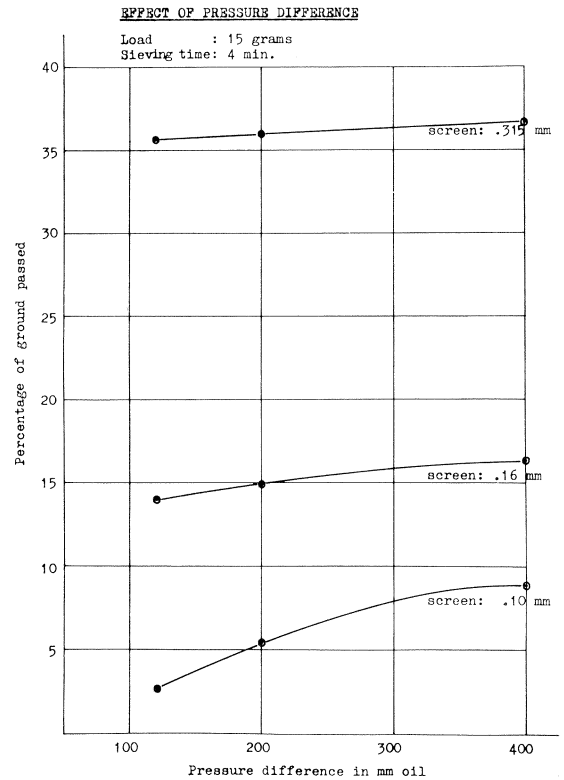


Fig. 7. — Effect of pressure difference

Summarizing, we can say that the optimal condition for our sieve analyses with the Alpine air-jet sieve device were :

- Loading of the screen : 15 grams ground coffee
- Sieving time : 4 minutes
- Pressure difference : 400 mm

We performed a comparative test with three different types of sieve devices :

a) The shaking method, carried out with a Lavib shaking machine with eight screens on a pile. We showed you this device in diagram on figure 1. The upper screen was loaded with 50 grams ground coffee, the sieving time was eight minutes.

b) The vibrating method, whereby we used a Fritsch vibrating sieve device.

c) The air-jet sieving method, under the standard conditions which we mentioned before.

The results of this comparative study are represented in fig. 8. We performed a series of analyses with a special sample of ground coffee. The mean results are given here. It will be hardly necessary to say that we got the best results with the air-jet sieve. In fig. 9 we will show you a similar experiment. Two grinds of coffee are analysed with two devices, the shaking sieve and the air-jet sieve. As you see the results are similar, especially, again, for the finer particles.

Mister chairman, ladies and gentlemen, as we observed, there is a trend towards a faster method of coffee brewing, at least in Europe. Consequently there is a growing demand for more finely

ground roasted coffee. For the control of the readjustments of the granulizers and for the quality control of the resulting product we must have a good and reproducible way of sieve analyses at our disposal. You will hardly be surprised that we use the air-jet sieve device for that purpose.

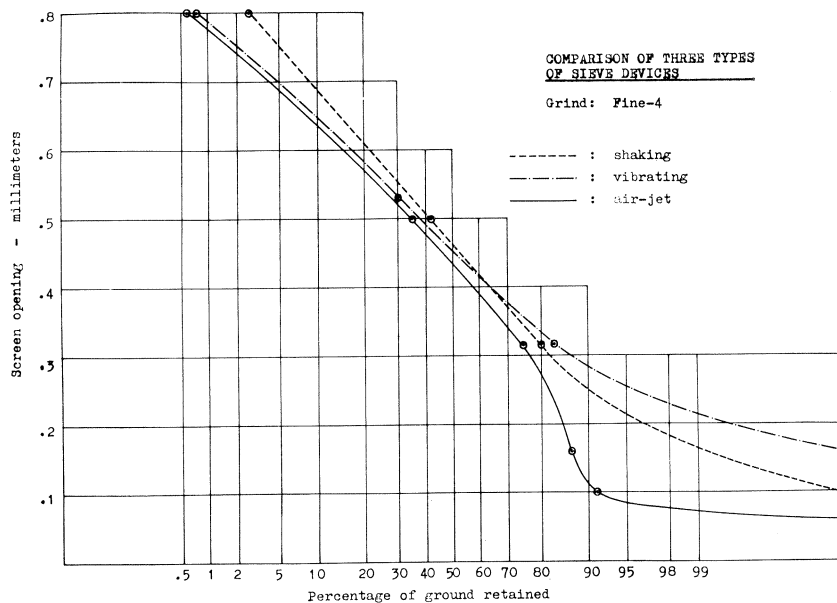


Fig. 8. — Comparison of three types of sieve devices

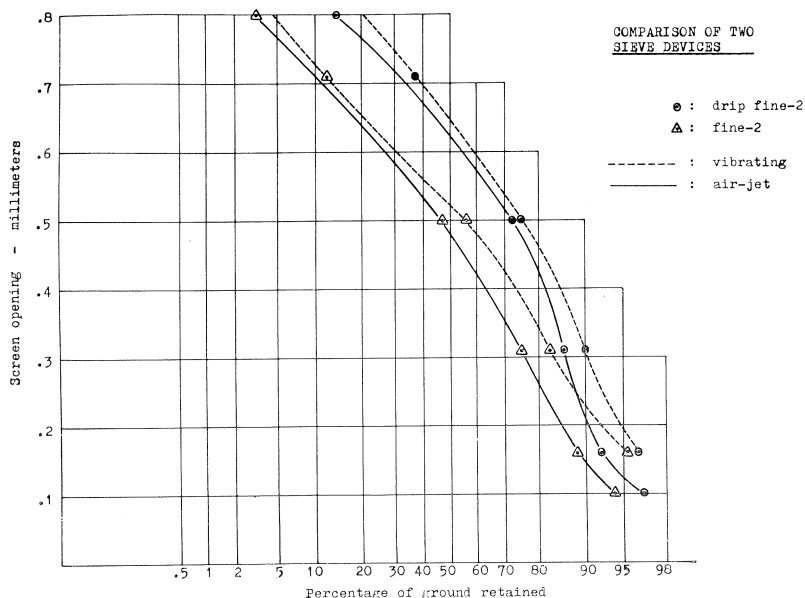


Fig. 9. — Comparison of two sieve devices

VAN VEEN (Th.), VREESWIJK (J. H.). — **Analyse par tamisage du café finement moulu.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 192-198, fig.

Pour le contrôle de la qualité du café, l'analyse par tamisage de la mouture est extrêmement importante.

Etant donné les nouvelles méthodes de préparation de la boisson, les auteurs insistent sur l'analyse des particules les plus fines.

A partir d'une comparaison établie entre trois types d'appareils : tamis à secousses, tamis à vibrations et tamis à jet d'air, on a pu prouver que les particules les plus fines s'agglutinaient moins aux plus grosses dans ce dernier type d'appareil.

Les auteurs discutent les résultats des essais comparatifs qu'ils ont menés.

VAN VEEN (Th.), VREESWIJK (J. H.). — **Sieve analysis of finely ground coffee.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 192-198, fig.

For the quality control of coffee the sieve analysis is of importance. Due to the newer methods for the brewing of the coffee, stress is laid on the analysis of the finer fractions.

From a comparison with three types of machines, namely shaking, vibrating and air-jet sieves, it was proven that the clogging of the finer particles to the coarser ones could be reduced by using the latest type of sieving apparatus.

The results of comparative tests will be discussed.

VAN VEEN (Th.), VREESWIJK (J. H.). — **Analyse durch Sieben des fein gemahlten Kaffees.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 192-198, fig.

Für die Qualitätskontrolle des Kaffees ist die Analyse durch Sieben des Mahlgutes äusserst wichtig.

Angesichts der neuen Aufbereitungsmethoden des Getränks betonen die Autoren die Notwendigkeit einer Analyse der feinsten Partikel.

Ausgehend von einem Vergleich zwischen drei Modellapparaten : Schüttelsieb, Vibrationssieb und Luftstrahlsieb konnte bewiesen werden, dass die feinsten Partikel sich in den Luftstrahlsieben weniger mit den grössten Partikel agglutinieren.

Die Autoren erörtern die Ergebnisse der von ihnen durchgeführten Versuche.

DISCUSSION

M. KADEN : Herr Th. van Veen hat sich mit einem Problem befasst, das für unsere analytischen Untersuchungen von Röst-Kaffee und für unsere sensorischen Qualitätsbeurteilungen bedeutsam ist. Bekanntlich spielt beim Extrahieren von Röstkaffee — sei es für die chemische Analyse — sei es für Aufgüsse zum Degustieren bei Vergleichstests die einheitliche Mahlung der Bohnen eine grosse Rolle. Die von Herrn van Veen ausgearbeitete Methode ist zur Bestimmung der Feinheitgrade offenbar gut geeignet und hat den grossen Vorteil, dass wir sein einfaches Gerät im Labor mit Hilfe eines Staubsaugers selbst bauen können.

CONCLUSION A LA TROISIÈME COMMISSION

O. F. KADEN

Damit wären wir am Ende der Sitzung unserer Kommission angelangt. Der Verlauf war sehr erfreulich. Die Referate, die wir hörten, waren für unsere Arbeit sehr wertvoll und es bleibt zu hoffen, dass bei einigen unter Ihnen der Wunsch geweckt wurde, sich ebenfalls irgendwie an diesen Forschungen zu beteiligen. Vielleicht kann dadurch vor allen Dingen den Herren, die im Ausland vor schwere Aufgaben gestellt sind, geholfen werden, indem aus unseren Kreisen Untersuchungen unternommen werden, die man im Ausland nicht durchführen kann. Es gilt, auf dem Weg, den wir in unserer 3. Kommission beschritten haben stetig weiter voranzukommen, um die Qualität des Kaffees im allgemeinen zu verbessern helfen.

Allen Referenten nochmals meinen herzlichen Dank für die viele Mühe, die sie sich gegeben haben. Hoffentlich werden wir uns in zwei Jahren wiedersehen und wiederum interessante Fragen behandeln und klären können.

INTRODUCTION A LA QUATRIÈME COMMISSION

G. CZOK

Pharmakologisches Institut der Universität, Hamburg

Herr Präsident,

meine Damen und Herren !

Ich begrüße Sie zu der Sitzung der vierten Kommission und freue mich, dass auch zu diesem vierten Kolloquium eine grosse Zahl von Wissenschaftlern aus verschiedenen Ländern nach Amsterdam gekommen ist, um hier über ihre neuesten Ergebnisse ihrer Untersuchungen auf dem Gebiet der physiologischen Wirkungen von Kaffee und Kaffeeinhaltsstoffen zu berichten.

Vielleicht darf ich in diesem Zusammenhang noch einmal kurz auf die Sitzung der zweiten und dritten Kommission hinweisen, in der bekanntlich chemische Fragen angesprochen wurden. Die Chemiker finden es des öfteren nicht zweckmässig und vielfach auch unnötig, physiologischen Gedankengängen nachzugehen ; es ist daher besonders begrüssenswert, dass sie sich im Rahmen dieses Kolloquiums auch mit solchen Fragestellungen auseinandersetzen, die für den Chemiker von besonderem Interesse sind.

Von den Vorträgen, die wir hören werden, sind besonders wichtig einige Beiträge, die sich mit den Wirkungen von Kaffee und Coffein auf den Fett- und Kohlehydratstoffwechsel befassen.

Die hier vorgetragenen Untersuchungsergebnisse sind auch deshalb von besonderem Interesse, weil gerade in der letzten Zeit vielfach der Verdacht geäussert wurde, dass möglicherweise zwischen Kaffeegenuss und bestimmten Erkrankungen, wie z. B. der Atherosklerose oder dem Herzinfarkt ein ursächlicher Zusammenhang bestehen könnte.

Neben diesem Fragenkomplex werden aber auch noch andere wichtige Themen hier abgehandelt werden. So werden wir u. a. auch hören, dass neben dem Coffein noch andere Kaffeeinhaltsstoffe wirksam sind, und sehen daher mit besonderem Interesse auch den Vorträgen entgegen, die sich mit den Wirkungen der Chlorogensäure auf das



Zentralnervensystem befassen und eine thiaminaktivierende Wirkung der Chlorogensäure wahrscheinlich machen. Schliesslich ist ein weiterer Vortrag noch von besonderem praktischen Interesse, durch den wahrscheinlich gemacht wird, dass das im Kaffee enthaltene Niazin auch bei bestimmten Niazinmangelzuständen, wie z. B. bei der Pellagra, Heilwirkungen entfaltet.

Wie in den übrigen Kommissionen ist es üblich, zunächst in einem Hauptreferat über die in der letzten Zeit gewonnenen wichtigen Ergebnisse auf dem Gebiet der physiologischen Wirkungen von Kaffee und seiner Inhaltsstoffe zu berichten, und es ist mir eine grosse Freude, dass sich Herr Prof. Heyden aus USA bereit erklärt hat, uns dieses Hauptreferat zu halten.

PHYSIOLOGICAL ACTIONS OF COFFEE WITH SPECIAL ATTENTION TO LIPID METABOLISM

S. HEYDEN, W. M. O'FALLON

Department of Community Health Sciences
Duke University Medical Center, Durham, N. C.

In the past few months patients have turned up in physicians' offices in the United States and Canada inquiring about a booklet printed by the Cambrian Press, Toronto, Ontario which bears the provocative title, «The Startlingly Successful Grapefruit Diet». Advertising has reached the daily newspapers and, as is to be expected, a large number of overweight people have faithfully paid their two dollars for the booklet since the claims made fulfill all the wishful thinking of an overweight person. The anonymous author states : «Eat until you are stuffed and then force yourself to eat more. The more you eat of the combination, the more you will lose. Drink one glass of unsweetened grapefruit juice with each meal. Cut down on coffee. It is thought to affect the insulin balance that hinders that burning process. At each meal you must eat until you are full, until you cannot possibly eat anymore. Don't eliminate anything. For example, don't skip bacon or omit the salad for dinner. It is this combination of food that burns up accumulated fat. The grapefruit is important because

it acts as a catalyst that starts the fat-burning process. Why coffee should retard the grapefruit diet plan is no easier to answer than why the grapefruit diet itself works.»

It is almost unbelievable that intelligent persons would seriously even consider such a diet plan. However, wishful thinking has always been a strong force in the elimination of logic.

Upon closer examination, however, one recognizes — specifically in the two statements about the alleged effect of coffee on the insulin balance and the hindering of the fat-burning process — contradictory and therefore confusing statements in the current medical literature. Within the last few years a number of articles have appeared in the scientific medical literature which have dealt with the effect of coffee or caffeine on glucose and fat metabolism. They derived their results from animal experiments, short-term clinical observations as well as long-term longitudinal studies of subjects with and without ischemic heart disease.

EFFECTS OF COFFEE ON GLUCOSE TOLERANCE AND GLUCOSE METABOLISM IN ANIMAL EXPERIMENTS AND HUMAN SUBJECTS



It is safe to say that up to this moment, spring, 1969, no definite statement can be made about the effect of caffeine on glucose metabolism. Methodological problems are at least partially responsible for contradictory results ; e. g.

1. Different results have been reported in animal experiments in which caffeine was administered intravenously, subcutaneously, intramuscularly or per orally. In addition, the question of a caffeine dose dependency has been raised.

2. Major differences also stem from the fact that some investigators examined fasting baseline glucose

S. HEYDEN

levels and the effect of caffeine on subsequent glucose levels whereas others started with a glucose load and followed glucose tolerance curves with simultaneous administration of caffeine.

3. As in many other experimental situations species specificity has to be taken into account and certainly the results of animal experiments cannot necessarily be applied to man.

4. Even within the same species the use of overweight versus normal weight animals resulted in different outcome.

5. In glucose metabolism of man, age and, to a minor degree, sex differences play some role, the magnitude of which needs to be determined. Diabetic individuals may show different reactions to caffeine in their glucose tolerance levels than non-diabetics.

Work in animals

According to a recent review by the Philadelphia General Hospital group which appeared in the journal *Metabolism*, 1969, there are at least five animal experiments in various species showing a **hyperglycemic** effect of caffeine. In contrast there exist two experiments in animals showing a **decrease** in fasting blood glucose levels during caffeine administration and a decrease of the glucose levels during the oral glucose tolerance test when caffeine was administered (review by DE CASTRO et al., 1969).

Work in humans

There are two studies in humans showing **higher** blood glucose levels when caffeine was given during an intravenous glucose tolerance test. In contrast to these two studies we know of three studies showing a **drop** in the fasting blood sugar levels and a **depressing** effect on the peak of the sugar tolerance curve after caffeine was administered. The third study, reported recently by FEINBERG et al. (1968) is summarized in table I.

Interestingly, no statistically significant differences — either in human subjects or in dogs — between the control groups and the caffeine-treated groups were

TABLE I

Effects of coffee ingestion on oral glucose tolerance curves in humans

Min.	Number of Subjects	Blood Glucose of Controls	Blood Glucose of Subjects Ingesting Coffee	P
0	23	80	79	N. S.
30	18	139	118	< 0.01
60	23	122	99	< 0.001
90	15	90	83	N. S.
120	23	77	73	N. S.
180	23	68	73	N. S.

Modified table from : L. J. FEINBERG et al., *Metabolism* 17 : 916, 1968.

noted in the serum immunoreactive insulin levels at any time during the oral or intravenous glucose tolerance test (FEINBERG et al., 1968).

VOLKHEIMER et al. (1969) reported an increased motor activity of the muscularis mucosae of the gastrointestinal tract during coffee administration. Others believe that the gastric irritants contained in coffee may produce a state of hypermotility resulting in a rapid transient time of glucose through the gut and hence defective absorption of the test meal. Caffeine is known to profoundly augment gastric secretion in men, with peak levels of free acid appearing 40 to 50 minutes after administration of caffeine. FEINBERG and co-workers concluded from this well-known fact that it is possible that this mechanism might play an important role in the **reduced** postalimentary blood sugar peaks found in their study of normal subjects.

DE CASTRO et al. (1969) speculated that caffeine might stimulate the uptake of sugar by the muscle in a manner similar to exercise. This action occurs independent of insulin activity and would explain the lack of concomitant changes in immunoreactive insulin levels found by this group.

It appears to us, then, that there is no basis for the assumption that caffeine might evoke a hyperglycemic effect in human subjects, neither in normal, healthy adults nor in diabetic patients.

CAFFEINE AND ITS INFLUENCE ON FAT METABOLISM

Free fatty acids

A considerable amount of literature has accumulated in the last five years pertaining to the rise of plasma free fatty acid concentrations after ingestion of coffee, intra-

venous and intramuscular caffeine injections and after drinking coca cola which contains caffeine (BELLET et al., 1968). There are wide individual variations in the response of the free fatty acid levels to caffeine; however, in general a significant increase over control levels

within four hours after administration of caffeine can be observed. The peak free fatty acid concentration in the blood of dogs after caffeine administration occurred two hours later. In human subjects the peak concentration of free fatty acids is given at three to four hours after coffee ingestion.

An interesting finding made during these experiments was that glucose apparently blocked the free fatty acid increase normally produced by coffee ingestion. The suppression of caffeine-induced free fatty acid mobilization by sucrose or glucose is probably a result of the effect of sucrose and glucose on reesterification of the released free fatty acids. « When the effect of glucose administration has dissipated, the lipolytic effect of caffeine is no longer counteracted by the glucose and a significant increase in plasma free fatty acids is observed » (BELLET, KERSHBAUM and FINCK, 1968).

Although the measurement of blood caffeine concentrations has been plagued by methodological difficulties, it can be assumed that maximum concentrations of caffeine in the blood are reached within one hour, after which a gradual decline occurs over a period of seven to nine hours (BELLET et al., 1968).

There is nothing specific about the free fatty acid elevation induced by and associated with the use of coffee. Physical exercise, cigarette smoking, emotional stress, prolonged starvation and alcohol consumption in excessive amounts are all known to increase free fatty acids temporarily to a significant degree. The mobilization of free fatty acids in physical exercise, cigarette smoking and emotional stress is facilitated through circulating catecholamines. To produce an effective level of circulating catecholamines in the blood, both the adrenal glands and the sympathetic nervous system must be functioning concomitantly.

« There is little doubt that norepinephrine plays a cardinal role in elevating the FFA level during exercise » (RODAHL et al., 1964). Nobody has shown an increase in cholesterol levels following exercise, however. In cigarette smoking, KERSHBAUM and co-workers (1962-63) have demonstrated that the increased release of epinephrine and norepinephrine by the sympathetic nerve endings and adrenal glands cause the mobilization of free fatty acids from adipose tissues since in patients with bilateral adrenalectomy no free fatty acid elevation in the blood was seen after cigarette smoking. It was this group of investigators in Philadelphia, KERSHBAUM and BELLET, who had repeatedly stated that the free fatty acid elevation after cigarette smoking « may be important in view of subsequent hypercholesterolemia. » However, during the last ten years it has become increasingly clear, mainly from epidemiologic studies, that cigarette smokers do not differ from non-cigarette smokers in regard to their cholesterol levels. The pooled data from the Albany and Framingham Heart Studies indicated that lipid levels are not correlated with smoking habit (DOYLE, 1968). Most long-term studies are in agreement that there is no

significant association between tobacco habit and each of the factors, body weight, serum total cholesterol concentration and arterial blood pressure. Reference is made to the report by BLACKBURN and co-workers (1960) who did not see any association between cigarette smoking and higher cholesterol levels in several occupational groups, comparing cholesterol levels of age matched smokers and non-smokers.

Occupational groups	Non-smokers	Cigarette smokers
Business men	234.8 mg %	242.7 mg %
Students	173.7 mg %	179.0 mg %
Railroad workers . . .	224.8 mg %	232.2 mg %
Firemen	241.7 mg %	251.1 mg %

On the basis of our own cross-sectional study (HEYDEN, 1967) of 500 Swiss factory workers (males 30 to 60 years of age) we cannot subscribe to a visible long-term effect of nicotine on blood lipids. EPSTEIN (1965) likewise stated « the effect of nicotine on ischemic heart disease is probably not mediated by cholesterol or blood pressure since these variables are not consistently associated with smoking ».

The other frequent assumption that cholesterol levels are increased under conditions of emotional stress has been refuted in several studies. LEVI (1967) in a very careful short term experiment on 33 male volunteers has documented a significant increase of free fatty acids in the serum of men undergoing stress situations whereas the cholesterol levels in the same subjects remained unchanged. Similarly, RAAB and KRZYWANEK (1966) found mean FFA levels markedly elevated during combined sensory and mental stresses but serum cholesterol concentrations were not influenced. Although it has become a popular opinion that cholesterol levels rise with emotional stress, more recent investigations have shown that there was really no difference in cholesterol levels of men undergoing stressful situations or being in stressful occupations (lit. see HEYDEN, 1969).

Finally, the effect of prolonged starvation on blood lipids of obese subjects is usually a fall of cholesterol and triglyceride levels, but a rise of FFA levels above baseline (JACKSON, 1969). Only extreme degrees of weight loss in excessively obese persons occasionally may produce hypercholesterolemia.

Cholesterol metabolism and ischemic heart disease

To return to the problem of cholesterol metabolism and coffee consumption we are faced with two studies in human subjects which contradict each other but nevertheless have caused great concern to laymen and physicians alike.

1. LITTLE and co-workers (1965) tried to correlate dietary intake with serum cholesterol levels in 86 patients with coronary heart disease and 84 control persons and found none of the correlation coefficients statistically significant. Among the dietary factors considered were coffee and tea consumption, as indicated by the number of cups of coffee, the number of cups of tea and the number of cups of tea and coffee combined.

They stated : « Our coronary patients took less tea and coffee and less sugar than the control persons. » However, their coronary group when examined alone showed a positive and statistically significant correlation of coffee intake with **plasma cholesterol**. In 1966 the same group reported that in the coronary group coffee showed a consistently positive and significant correlation with each of the serum lipid and serum lipoprotein fractions measured. The authors mentioned that, « In our retrospective study of Canadians, coronary patients and controls drink equal amounts of coffee. This difference in results (in comparison to the Americans examined by PAUL) cannot be explained unless after the onset of coronary symptoms patients drank less coffee. » And later they also stated : « The data suggest that coffee contains a substance which elevates serum lipids in susceptible persons and that such persons may be liable to coronary heart disease. It has yet to be shown, however, that other serum lipid fractions (besides plasma unesterified fatty acids) will become elevated with long-term drinking of coffee or that increased atherosclerosis results » (LITTLE et al., 1966).

2. The second investigation, an epidemiologic study conducted by PAUL et al. (1963) reported that there was significant correlation between the use of coffee and the later development of coronary disease ($P < 0.025$). In 1968 this same group reported : « We did not have evidence that the serum cholesterol level was significantly higher in the group with the highest coffee consumption, although it was slightly higher in these men than in those with the lowest or no coffee consumption.

It did not appear that the association of coffee drinking with an increased incidence of coronary disease could be entirely explained on this basis. »

We have voiced our criticism that although there was statistical significance it was really not enough to make one confident of the biological importance. The statistical significance in this first analysis back in 1963 depended on the excessive coffee intake of 10 patients out of 54 coronary patients. Even if taken at face value, the effect on the coronary arteries could not necessarily be attributed to the coffee intake because of the competing effect of other factors, e. g. nicotine inhalation which had not been taken into account in this particular statement by PAUL. Table II again shows the sole observation of one single factor, coffee consumption and relation to different manifestations of ischemic heart disease (PAUL, 1968).

The author himself described the coffee consumption of the men who died as « puzzling », since the « death rate was highest among those who either took no coffee or consumed five or more cups a day ».

It is a general observation that those individuals who are excessive coffee drinkers and also smoke tend to smoke cigarettes excessively. In a second study by PAUL et al. reported in the *Lancet* of November, 1968, these factors were considered together and it was now stated that the simple relation between the coffee and cigarette habit was analyzed and they are significantly associated with a $P < 0.001$. An additional, more statistically sophisticated analysis of the 1963 data was performed. The 66 subjects with CHD histories were compared to 85 randomly selected controls using the logit transformation. This transformation allows for the comparison of the risks of high and low coffee drinkers separately from the risks attendant on cigarette smoking. The results are summarized :

« It is clear that the high cigarette users are severely at risk. The heavy coffee drinkers have somewhat more myocardial infarctions and deaths from coronary

TABLE II
Coffee intake and coronary disease

Cups of coffee consumed per month	Subjects	Angina		Myocardial infarction *		Deaths from coronary disease	
		Cases	Prevalence rate	Cases	Prevalence rate	Number	Prevalence rate
None	136	7	0.05	4	0.03	8	0.06
1-49	239	9	0.04	7	0.03	3	0.01
50-99	553	16	0.03	13	0.02	4	0.01
100-149	463	25	0.05	12	0.03	3	0.01
150 or more.....	327	23	0.07	17	0.05	6	0.02
	1.718	80		53		24	

* With survival.

From : O. PAUL, *Postgraduate Medicine* 44 : 196, 1968.

disease than do those who take little, but this difference is not statistically significant.»

The important point about this analysis is that the transformation has eliminated the interaction between cigarette smoking and coffee drinking. The authors conclude by stating :

« The heavy use of coffee may be implicated as a risk factor although the importance is clearly much less (than cigarettes) and may be questioned. »

It is evident, then, that the alleged statistically significant correlation between coffee consumption and coronary heart disease development may even be biologically unimportant. Neither a study by WALKER and GREGORATOS (1967) at the Walter Reed Army Hospital in Washington nor the prospective epidemiological study in Framingham, Massachusetts (1966) has shown a significant association between the excessive use of coffee and the development of coronary heart disease. It is interesting to note that ZELLER and AMMON were unable to increase the cholesterol level or the level of esterified fatty acids in the serum of 52 patients with liver disease as well as 41 healthy control persons after injections of caffeine or drinking of coffee. These results were obtained in six laboratory determinations on each subject over a period of three hours after intravenous application of 250 mg of caffeine or consumption of 225 mg of caffeine. However, as expected, they saw a marked increment of free fatty acids in healthy persons with a peak serum level two hours after caffeine administration and a peak serum level one to six hours after caffeine administration in patients with liver disease. Two British studies, one by BROWN in 1962 and the other one by NAISMITH and co-workers in 1969, could not show a positive correlation between use of coffee and coronary heart disease or coffee consumption and cholesterol levels. The study by NAISMITH and co-workers which was just reported was conducted on 20 healthy adult volunteers with an average age of 32. From records of the number of cups of tea and coffee consumed for ten consecutive days, the « background » daily intake of caffeine for the individual and for the group was calculated. During the first two weeks of the experiment each subject drank ten cups of decaffeinated coffee per day totaling 20 grs Sanka instant coffee containing 12 mg caffeine. Subsequently, for 20 days 10 cups of coffee (20 grs Maxwell House instant coffee = 875 mg caffeine) were consumed daily. The subjects were asked not to make any changes in their customary diets apart from avoiding other beverages containing caffeine.

The mean « background » caffeine intake for the entire group was high (560 mg per day). After two weeks on an almost **caffeine free regimen** plasma cholesterol levels were increased. The change in cholesterol levels was regarded statistically highly significant. The P value was not given. With the reintroduction of caffeine into the diet, the picture was reversed. The plasma cholesterol reportedly fell to near normal values and

again the changes in cholesterol levels were given as statistically highly significant. (This communication had appeared in abstract form only at the time of the present publication).

Although the total impact of the previously mentioned observations in humans was that of essentially no correlation between coffee drinking and the development of hypercholesterolemia or ischemic heart disease, the suspicion had been raised and one solution seemed to be animal experimentation. Here again, the several reported results were negative, i. e. indicating a non-cholesterol elevating effect and non-atherogenic effect of caffeine. However, a few studies demonstrated the development of hypercholesterolemia, e. g. NAISMITH et al., 1969, the same group of investigators who found no cholesterol elevating effect of caffeine in humans.

The hypothesis that coffee or caffeine might be harmful to the coronary arteries has been advanced most recently by a group of the Bio-Medical Division of the University of California (YOUNG et al., 1967). They contended « that the overt coffee drinking population has a higher degree of atherosclerosis than the overt tea drinking population ».

They compared the degree of coronary atherosclerosis of 155 Caucasians whom they designated as « coffee drinking population » with the degree of coronary atherosclerosis of 50 Chinese whom they designated as « tea drinking population ». The age and sex were not mentioned (!). The mean degree of coronary atherosclerosis in Caucasians was given as « 58 », in the Chinese as « 37 ». In view of the great variation with their method it is highly unlikely that these differences are significant. It is impossible to perform any statistical comparison because the authors have failed to report standard deviations.

In a total number of 150 examinations of cerebral arteries in Caucasians they found a mean degree of « 33 » in cerebral atherosclerosis and among 40 examinations of cerebral arteries in Chinese a mean degree of « 12 » in cerebral atherosclerosis.

It is quite an assumption to « lump » a Caucasian because of his white color into the « coffee drinking population », particularly after one has studied the coffee drinking habits of white people in our Evans County (Georgia) Study where we find actually more tea drinkers. However, in the absence of age- and sex-specific data and standard deviations of the grading of atherosclerosis of the coronary and cerebral arteries these numbers are useless and would lead us to become skeptical about the outcome of an animal experiment which this same group of investigators conducted. The purpose of their experiment was to explore the relationship between tea drinking and atherosclerosis (table III). Since tea contains considerable amounts of caffeine as well, it is pertinent to discuss this paper briefly.

Rabbits were maintained for 3 months on a diet consisting of rabbit chow augmented with 3 % Wesson oil and 0.25 % cholesterol. Data on serum lipids were

available on 4 groups of animals but the frequency with which these determinations were made (or whether they represent a mean value) is not stated. The group of major interest was the one which was fed the diet plus tea. It consisted of four animals ; the control group which received neither the high fat diet nor tea consisted of six animals and the group which received diet alone had five animals. Finally, the group which was on a diet three months before the tea was supplied in the drinking water had ten animals. The table shows the results which led the investigators to the conclusion : « The data show that tea decreases concentration of lipids in the serum... they further suggest that if the atherosclerosis proceeds beyond a reversible stage, tea cannot reverse it. Probably tea must be supplied simultaneously with fat or immediately after a meal of fat. Theophylline and theobromine are far less effective, if at all, than tea in preventing the aorta from forming atheroma. Thus it seems that some active principle other than theophylline in the tea extract must be responsible for preventing the formation of atheroma. » In view of the small number and variability of sample size, the absence of information on sex, age and weight of these animals and particularly in view of the preconceived hypothesis of this group of investigators, demonstrated in their study of coronary and cerebral atherosclerosis in man, we seriously doubt the validity of these conclusions.

We have participated in two experimental studies

ourselves, both of which had a negative outcome as far as atherosclerosis of the aorta and the coronary arteries of rabbits or cholesterol metabolism were concerned (HEYDEN and RÜTTNER, 1966 and HEYDEN et al., 1969). We have discussed our results with Dr. STAMLER in Chicago, who also found no hypercholesterolemia enhancing effect of coffee in chickens (personal communication, unpublished data).

TABLE III

Relationship between atherosclerosis and the concentration of serum lipoproteins in rabbits

Animal group	(n)	Lipoproteins			Degree of atherosclerosis
		sf 0-12	12-20	20-100	
Control	(6)	50	16	0	0
Diet alone	(5)	309	251	623	7.2
Diet and tea	(4)	214	79	437	2.0
Diet early and tea later	(10)	374	169	389	6.0

From : YOUNG et al. : Tea and Atherosclerosis (*Nature* 216 : 1015, 1967).

CONCLUSIONS

For the past five years the medical literature dealing with coffee is replete with statements made by the two groups of investigators, LITTLE et al. and PAUL et al. quoted previously. From our discussion of the original articles and subsequently published papers by the same authors, it becomes clear that they do not support each other.

The observation by LITTLE and co-workers that coffee stimulates lipolysis with elevation of plasma unesterified fatty acid is confirmed by all other workers in the field. However, their statement that the raised concentration of free fatty acids « may accelerate rate of synthesis and release of lipoproteins and raise serum lipid levels » is an assumption which they themselves questioned in these words : « It has yet to be shown, that other serum lipid fractions (besides free fatty acids) will become elevated with long-term drinking of coffee or that increased atherosclerosis results. » PAUL and co-workers could not confirm the finding by LITTLE's group by stating : « We did not have evidence that the serum cholesterol level was significantly higher in the group with the highest coffee consumption. » On the other hand LITTLE's group was unable to confirm the observation by PAUL's group that there was a signi-

ficant correlation between the use of coffee and the later development of coronary disease in American patients. The Canadian coronary patients drank equal amounts of coffee as their controls and it was specifically mentioned that Toronto physicians have not prescribed modification of coffee ingestion in patients after myocardial infarction.

If therefore the two studies on which all future statements and speculations were based not only disagree but actually contradict each other we have good reasons to dismiss the issue at this time. This is an even more desirable decision as PAUL and co-workers themselves have retracted their 1963 statement when they admitted in 1968 that the importance of heavy use of coffee as a risk factor may be questioned. The fact that one of the most reliable epidemiological long term studies, the Framingham Study, after 16 years of observation in over 5,000 adults, could demonstrate « no substantial effect of heavy consumption of coffee or tea on morbidity and mortality » from coronary heart disease, according to a 1967 report by KANNEL et al., favors our conclusion to dismiss the issue.

In addition we have attempted to demonstrate from several other conditions which cause an increment in free fatty acids that a subsequent rise in cholesterol

levels is not observed. There is no reason to believe that the temporary elevation of free fatty acids after coffee ingestion necessarily leads to an increase in serum cholesterol concentrations. Our own observations in an animal species which is known to have a species specific susceptibility for hypercholesterolemia and atherogenesis convinced us that caffeine — regardless of the route of administration — over a three months period has no hypercholesterolemia enhancing effect at all.

Finally, returning to the introduction, there is no support whatsoever for the allegations that the insulin balance may be affected by caffeine or that, as the lay article claims, the « fat burning process » is impaired. Coffee appears not to exert a hyperglycemic effect but may even cause a temporary drop in the fasting blood sugar level and a depressing influence on the peak of the glucose tolerance test curve. Naturally, coffee does not retard any diet but is a rather welcome addition to every type of reducing diet.

REFERENCES

1. BELLET, S., KERSHBAUM, A. and FINCK, E. M. — Response of Free Fatty Acids to Coffee and Caffeine. *Metabolism*, 17 : 702, 1968.
2. BELLET, S., KERSHBAUM, A. and ROMAN, L. — Effect of Cola Drinks on Serum Free Fatty Acids. *Arch. Environ. Health.*, 17 : 803, 1968.
3. BELLET, S., ROMAN, L., DeCASTRO, R. O., KIM, K. E. and KERSHBAUM, A. — Effect of Coffee Ingestion on Catecholamine Release. *Metabolism*, 18 : 288, 1969.
4. BLACKBURN, H., BROZEK, J., TAYLOR, H. L. and KEYS, A. — Comparison of Cardiovascular and Related Characteristics in Habitual Smokers and Non-smokers. *Ann. J. N. Y. Acad. Sci.*, 90 : 277, 1960.
5. BROWN, A. — Coronary Thrombosis ; an Environmental Study. *Br. med. J.*, 5304 : 567, 1962.
6. DeCASTRO, O. A. P., SANDBERG, H., FEINBERG, L. J. and BELLET, S. — Effects of Various Routes of Caffeine Administration on Oral and Intravenous Glucose Tolerance Tests in Dogs. *Metabolism*, 18 : 163, 1969.
- 6.a DOYLE, J. — Tobacco and Heart Disease. *Postgrad. Med.*, 44 : 188, 1968.
7. EPSTEIN, F. — The Epidemiology of Coronary Heart Disease. A Review. *J. Chron. Dis.*, 18 : 735, 1965.
8. FEINBERG, L. J., SANDBERG, H., DeCASTRO, O. A. P. and BELLET, S. — Effects of Coffee Ingestion on Oral Glucose Tolerance Curves in Normal Human Subjects. *Metabolism*, 17 : 916, 1968.
9. HEYDEN, S. — Die BBC-Studie, *Arch. Kreislaufforsch.*, 53 : 1, 1967.
10. HEYDEN, S., DeMARIA, W., JOHNSTON, W. W. and O'FALLON, W. M. — Caffeine Effects on Cholesterol and Development of Aortic and Coronary Atherosclerosis in Rabbits. *J. Chron. Dis.*, 21 : 677, 1969.
11. HEYDEN, S. and RÜTTNER, J. — Influence of Caffeine on the Cholesterol Levels in Animal Experiments. *Pathol. Microbiol.*, 29 : 291, 1966.
- 11.a HEYDEN, S. — Emotional Stress. In : Atherosclerosis, G. Schettler and G. S. Boyd, editors. Elsevier Publishing Co., Amsterdam-New York, 1969.
12. JACKSON, I. M. D. — Effect of Prolonged Starvation on Blood Lipid Levels of Obese Subjects. *Metabolism*, 18 : 13, 1969.
13. KANNEL, W. B., CASTELLI, W. P. and McNAMARA, P. M. — The Coronary Profile : 12-Year Follow-up in the Framingham Study. *J. Occupat. Med.*, 9 : 611, 1967.
- 13.a KANNEL, W. B. — The Framingham Heart Study, Habits and Coronary Heart Disease. P. H. S. Publication N° 1515, U.S. Department of Health, Education and Welfare, N. H. I., U. S. Government Print. Office, Washington, D. C., 1966.
14. KERSHBAUM, A., BELLET, S., CAPLAN, R. F. and FEINBERG, L. J. — Effect of Cigarette Smoking on Free Fatty Acids in Patients with Healed Myocardial Infarction. *Amer. J. Cardiol.*, 10 : 204, 1962.
15. KERSHBAUM, A., KHORSANDIAN, R., CAPLAN, R. F., BELLET, S. and FEINBERG, L. J. — The Role of Catecholamines in Free Fatty Acids Response to Cigarette Smoking. *Circulation*, 28 : 52, 1963.
16. LEVI, L. — Das Experiment am Menschen in der Psychosomatik. *Verh. deutsch. Ges. inn. Med.* 73. Kongress (p. 58), 1967.
17. LITTLE, J. A., SHANOFF, H. M., CSIMA, A., REDMOND, S. E. and YANO, R. — Diet and Serum-Lipids in Male Survivors of Myocardial Infarction. *Lancet*, May 1, 933, 1965.
18. LITTLE, J. A., SHANOFF, H. M., CSIMA, A. and YANO, R. — Coffee and Serum-Lipids in Coronary Heart Disease. *Lancet*, April 2, 732, 1966.
19. NAISMITH, D. J., AKINYANJU, P. A. and YUDKIN, J. — The Influence of Coffee Drinking on Plasma Lipids and Fasting Blood Glucose in Healthy Human Volunteers. *Proceedings of the Nutr. Soc.* 28 : 12A (Abstracts of Communications) 1969.
20. NAISMITH, D. J., AKINYANJU, P. A. and YUDKIN, J. — Influence of Caffeine-containing Beverages on the Growth, Food Utilization and Plasma Lipids of the Rat. *J. Nutrition*, 97 : 375, 1969.
21. PAUL, O. — Stimulants and Coronaries. *Postgrad. Med.*, 44 : 196, 1968.

22. PAUL, O., LEPPER, M. H., PHELAN, W. H., DUPERTUIS, G. W., MacMILLAN, A., McKEAN, H., and PARK, H. — A Longitudinal Study of Coronary Heart Disease. *Circulation*, 28 : 20, 1963.
23. PAUL, O., MacMILLAN, A., McKEAN, H. and PARK, H. — Sucrose Intake and Coronary Heart Disease. *Lancet*, Nov. 16, 1049, 1968.
24. RAAB, W. and KRZYWANEK, H. J. — Cardiac Sympathetic Tone and Stress Response Related to Personality Patterns and Exercise Habits. Wilhelm Raab, Editor, Prevention of Ischemic Heart Disease : Principles and Practice. Charles C. Thomas, Publisher, Springfield, Illinois, 1966.
25. RODAHL, K., MILLER, H. I. and ISSEKUTZ, B. Jr. — Plasma Free Fatty Acids in Exercise. *J. Appl. Physiol.*, 19 : 489, 1964.
26. VOLKHEIMER, G., SCHULZ, F. H., HOFER, E. und SCHICHT, J. — Coffeinwirkung auf die Per-sorptionrate. *Nutr. Dieta.*, 11 : 13, 1969.
27. WALKER, W. J. and GREGORATUS, G. — Myo-cardial Infarction in Young Men. *Am. J. Card.*, 19 : 339, 1967.
29. ZELLER, W. und AMMON, H. P. T. — Der Einfluss von Koffein auf den Fettstoffwechsel bei Leber-kranken. *Z. Gastroenterologie*, 5 : 84, 1967.
28. YOUNG, W., HOTOWEC, R. L. and ROMERO, A. G. — Tea and Atherosclerosis. *Nature*, 216 : 1015, 1967.

HEYDEN (S.), O'FALLON (W. M.).
Actions physiologiques du café, notamment sur le métabolisme des lipides. — Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 201-208, tabl., réf.

En se basant sur les travaux contradictoires publiés dans la littérature et sur leurs propres expériences, les auteurs concluent qu'il n'est pas possible d'affirmer que la caféine est à l'origine d'hyperglycémie chez les humains, sains ou diabétiques ; qu'il n'y a aucune raison de croire qu'une élévation du taux des acides gras libres dans le plasma, après l'ingestion de café, conduit nécessairement à une augmentation des concentrations en cholestérol du sérum.

HEYDEN (S.), O'FALLON (W. M.).
Physiological actions of coffee, with special attention to lipid metabolism. Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 201-208, tabl., réf.

Taking as a basis the conflicting investigations published in the literature and their own experiments, the authors conclude that it is not possible to assert that caffeine is responsible for hyperglycaemia in humans whether healthy or diabetic ; that there is no reason to believe that an increase in the rate of free fatty acids in the plasma, after ingestion of coffee leads necessarily to an increase in serum cholesterol concentrations.

HEYDEN (S.), O'FALLON (W. M.).
Physiologische Wirkungen des Kaffees insbesondere auf den Metabolismus der Fette. Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 201-208, tabl., réf.

Auf Grund des sich widersprechenden Schrifttums und ihrer eigenen Versuche kommen die Autoren zum Schluss, dass man nicht annehmen kann, Coffein würde bei gesunden oder zuckerkranken Menschen einer Hyperglykämie verursachen und dass kein Grund besteht, anzunehmen, eine Zunahme des Gehalts an Fettsäuren im Plasma führe notwendigerweise zu einer Erhöhung der Cholesterinspiegel im Serum.

DISCUSSION

M. STUHLAR : Bitte, wenn ich die sehr schönen Ausführungen von Prof. Heyden nur ganz kurz ergänzen darf ; in meinem Referat werde ich darauf noch zurückkommen.

In akuten Versuchen mit Kaffee und Coffein und auch Theophyllin konnten wir niemals einen Anstieg des Cholesterins oder der Serumtriglyzeride beobachten.

M. EICHLER : Wir haben in den letzten Jahren eine Neuerung der Coffeinforschung erlebt. Coffein, das chemisch eigentlich völlig gleichgültig geworden war, kommt jetzt ins Zentrum hinein, es wird jetzt als Sonde benutzt für viele physiologisch-chemische Vorgänge. Es geht sogar soweit, dass man den Kaffee vergisst vor diesen neuen Entdeckungen. Dabei liegen im Kaffee doch so viele Probleme, man könnte fast sagen, im Kaffee schwimmen noch unendlich viele Ordinariate, wo man weiter kommen könnte. Die Untersuchungen der Röstprodukte und all dessen, was sich darin entwickelt, ist zuerst energisch von Czok und K. Lang in Angriff genommen worden, und zwar mit Erfolg.

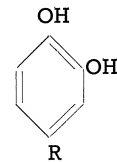


G. CZOK

ZUR FRAGE DER ANTITHIAMINAKTIVITÄT DES KAFFEES

R. BÖNICKE, G. CZOK

Forschungsinstitut Borstel, Institut für Experimentelle
Biologie und Medizin und Pharmakologisches
Institut der Universität Hamburg



Über das Vorkommen von Inhaltsstoffen mit thiamin-inaktivierender Wirkung in Pflanzen, so u. a. auch in Futterpflanzen und pflanzlichen Nahrungsmitteln (Gemüse, Salate, Früchte) liegt ein umfangreiches Schrifttum vor (KÜNDIG und SOMOGYI, 1964 ; dort auch weitere Literaturhinweise). Besonders eingehend ist der Adlernarn (*Pteridium aquilinum*) untersucht worden (SOMOGYI, 1949 ; SOMOGYI und v. MURALT, 1949 ; EVANS et al., 1950 ; BÖNICKE, 1953 ; BÖNICKE und KRÖGER, 1953 u. a.). 1967 gelang es BERÜTER und SOMOGYI, einen in diesem Farn vorkommenden thermostabilen Stoff mit Antithiamin-Aktivität zu isolieren und als 3,4-Dihydroxymzimtsäure (= Kaffeesäure) zu identifizieren. In weiterführenden Untersuchungen konnten dann SOMOGYI und BÖNICKE (1969) nachweisen, dass nahezu alle o-Diphenole der Konfiguration

Thiamin zu inaktivieren vermögen. m-Diphenole erwiesen sich als inaktiv. Da auch im Röstkaffee o-Diphenole u. a. Chlorogensäure und ihre Isomeren in relativ hoher Konzentration (etwa 2-3 %) enthalten sind, wurden von uns Versuche durchgeführt, die uns Auskunft über die Antithiamin-Aktivität des Kaffees geben sollten. Veröffentlichungen hierüber liegen u. W. bisher nicht vor. Durch Versuche an Kaninchen, denen hohe Chlorogensäuredosen oral gegeben wurden, sollte darüber hinaus geklärt werden, ob und in welchem Ausmass die thiamininaktivierende Wirkung der Chlorogensäure sich auch im Blutserum der Versuchstiere nachweisen liess. Über die Ergebnisse dieser Versuche wird im folgenden berichtet.

UNTERSUCHUNGSMATERIAL UND METHODEN

Thiamin-Bestimmung

Die quantitative Bestimmung der Thiamin-Konzentrationen erfolgte mikrobiologisch unter Verwendung des Agardiffusionstests (Auxanogramm). Als Testorganismus diente *Lactobacillus fermenti* (Kiel), als Nährboden das thiaminfreie Agarmedium «Bacto Thiamine Assay Medium» der Firma Difco, Detroit. Es wurden plane Petrischalen mit einem Durchmesser von 9 cm benutzt

und diese mit 14 ml beimpftem Agar-Medium beschickt. Aus der Mitte wurden Löcher mit 10 mm Durchmesser ausgestanzt und in diese 0,1 ml der Standard- bzw. Probenlösungen pipettiert. Nach 18-stündiger Bebrütung bei 37° C wurden die Durchmesser der kreisrunden Wachstumshöfe gemessen, daraus die Flächen berechnet und diese gegen die Logarithmen der zugehörigen Thiaminkonzentrationen in einem Standarddiagramm aufgetragen. Bei Einhaltung bestimmter Versuchsbe-

dingungen besteht, wie aus der in Abb. 1 dargestellten Thiamin-Eichkurve zu entnehmen ist, im Konzentrationsbereich von 0,05 γ bis 25 γ Thiamin/ml Linearität.

Nachweis der thiamininaktivierenden Wirkung des Kaffees

Herstellung der Kaffeelösungen

Die Untersuchungen wurden an einer grösseren Zahl von Kaffeeproben vorgenommen. Diese enthielten u. a. einen coffeefreien Kaffee, einen mit Wasserdampf behandelten Kaffee, einen nach dem Aufgussverfahren hergestellten Haushaltskaffee und zwei Proben löslichen Pulverkaffees mit unterschiedlichem Extraktgehalt. Sämtliche Kaffeeproben wurden durch Gefriertrocknung stabilisiert. Von den einzelnen Kaffeeproben wurden 60 mg (bezogen auf das nicht gefriergetrocknete Ausgangsprodukt) in 100 ml m/15 Phosphatpuffer pH 7,8 gelöst.

Herstellung der Thiaminlösung

10 mg Thiaminhydrochlorid der Firma E. Merck, Darmstadt, wurden in 100 ml m/15 Phosphatpuffer pH 7,8 gelöst.

Versuchsansätze

18 ml der einzelnen Kaffeelösungen wurden in Babyflaschen gegeben, 2 ml Thiaminlösung zugesetzt, gut durchgemischt und bei 37° C inkubiert. In den Versuchsgemischen waren somit 540 γ Kaffee/ml und 10 γ Thiaminhydrochlorid/ml enthalten. Unmittelbar nach Herstellung der Versuchsgemische sowie nach einer Inkubationszeit von 8, 16 und 24 Stunden wurden Proben entnommen und die darin enthaltenen Thiamin-Konzentrationen im Agar-Loch-Test bestimmt.

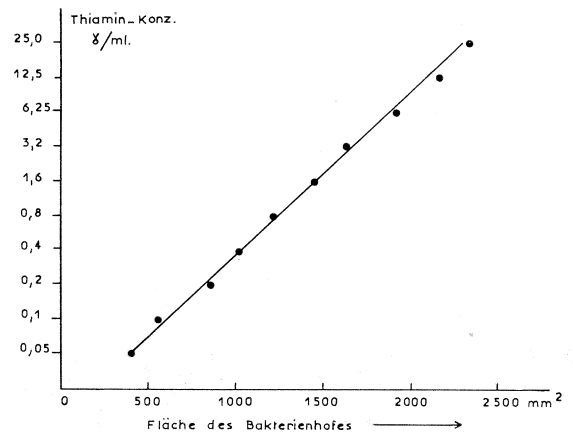


Abb. 1. — Eichkurve zur mikrobiologischen Thiamin-Best. Teststamm: *L. fermentum* (Kiel) Auxanographische Methode.

Tierversuche

Es wurden 10 Kaninchen mit einem Gewicht von 2,1 bis 2,3 kg verwendet. Ihnen wurde 250 mg Chlorogensäure/kg Körpergewicht oral appliziert und bei je 2 Versuchstieren nach 1, 2, 3 bzw. 6 Stunden durch Herzpunktion Blut entnommen. 2 Versuchstiere erhielten keine Chlorogensäure und dienten als Kontrolle. Zu 0,9 ml Blutsrum wurde 0,1 ml Thiaminhydrochlorid, gelöst in m/15 Phosphatpuffer pH 7,4, in der Konzentration 100 γ /ml, gegeben und unmittelbar danach sowie nach einer Reaktionszeit von 24 Stunden bei 37° C die Thiamin-Konzentration bestimmt. In gleicher Weise wurde mit Seren verfahren, die mit m/15 Phosphatpuffer pH 7,4 im Verhältnis 1 : 2 bzw. 1 : 4 verdünnt worden waren.

VERSUCHSERGEBNISSE

Die Prüfung der thiamininaktivierenden Wirkung 6 verschiedener Kaffeeproben

ergab folgende Ergebnisse, die in der Tab. 1 und Abb. 2 zusammengestellt sind. Hiernach sind wesentliche Unterschiede hinsichtlich der Antithiamin-Aktivität bei den verschiedenen Kaffeeproben nicht festzustellen. Nach einer Reaktionszeit von 24 Stunden sind unter den gewählten Versuchsbedingungen etwa 97-98 % des in den Versuchsansätzen enthaltenen Thiamins inaktiviert. Das entspricht ungefähr der

Wirkung von 10-12 γ Chlorogensäure/ml Reaktionsgemisch. Bis zu 16 Stunden verläuft die durch Kaffee bewirkte Thiamininaktivierung nach einer Reaktion 1. Ordnung. Ein nahezu identischer Kurvenverlauf wird erhalten, wenn im Versuchsansatz anstelle von 540 γ Kaffee/ml 10-12 γ Chlorogensäure/ml enthalten sind. Die thiamininaktivierende Wirkung der o-Diphenole ist in starkem Masse pH-abhängig. Sie nimmt mit der Alkalität des Substrates deutlich zu. Als Beispiel ist in Abb. 3 die pH-Abhängigkeit der Antithiamin-Aktivität der Kaffeesäure dargestellt. Eine identische pH-Abhängigkeit war auch hinsichtlich der thiamininaktivierenden Wirkung des Kaffees festzustellen.

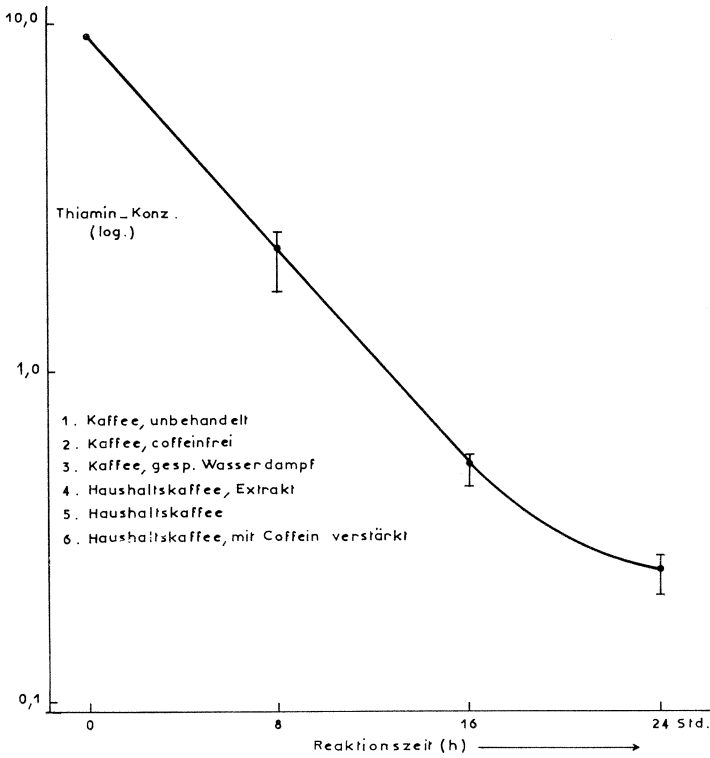


Abb. 2. — Thiamin-Abbau in Gegenwart verschiedener Kaffeeproben

TABELLE 1

Antithiamin-Aktivität verschiedener Kaffeeproben

Kaffeeprobe	Antithiamin-Aktivität			
	Thiamin-Konzentration n. verschiedenen Reaktionszeiten (Std.)			
	0	8	16	24
1. unbehandelter Kaffee...	10	2,6	0,5	0,24
2. mit gespanntem Wasserdampf behandelter Kaffee...	10	2,6	0,56	0,21
3. coffeinfreier Kaffee....	9,6	2,6	0,45	0,28
4. Haushaltskaffee, Extrakt.	10	2,1	0,5	0,26
5. löslicher Handelskaffee.	9,5	1,7	0,54	0,26
6. löslicher Handelskaffee, mit Coffein verstärkt	9,9	2,3	0,6	0,28
Mittelwert	9,8	2,3	0,53	0,26
Kontrollansatz : m/15 Puffer pH 7,8	10,0	—	—	9,6

Versuchsansätze

Thiamin : 25 μ /ml

KS : 40 μ /ml

Pufferung: m/30 Phosphatpuffer

T = 37°C ; t = 24 h

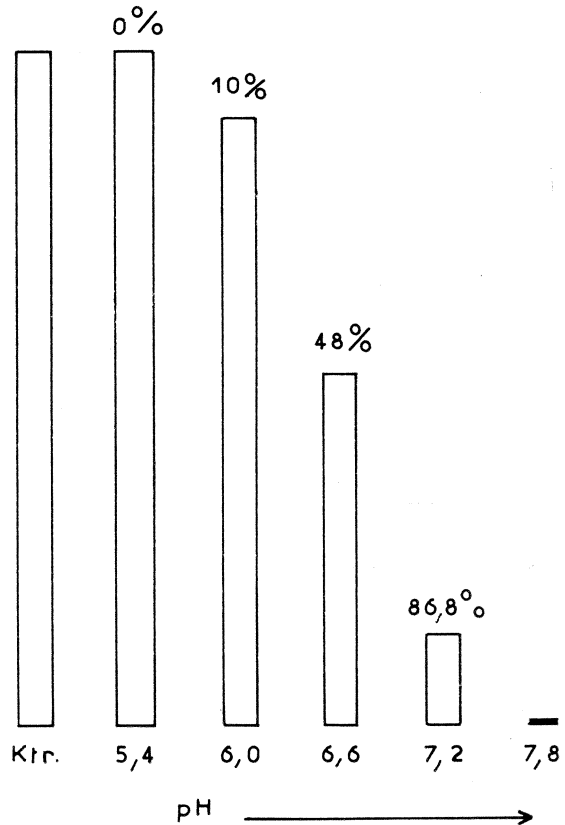


Abb. 3. — pH-Abhängigkeit der Thiamin-Inaktivierung in Gegenwart von Kaffeesäure (KS)

Die thiamininaktivierende Wirkung der Chlorogensäure unter In vivo-Bedingungen

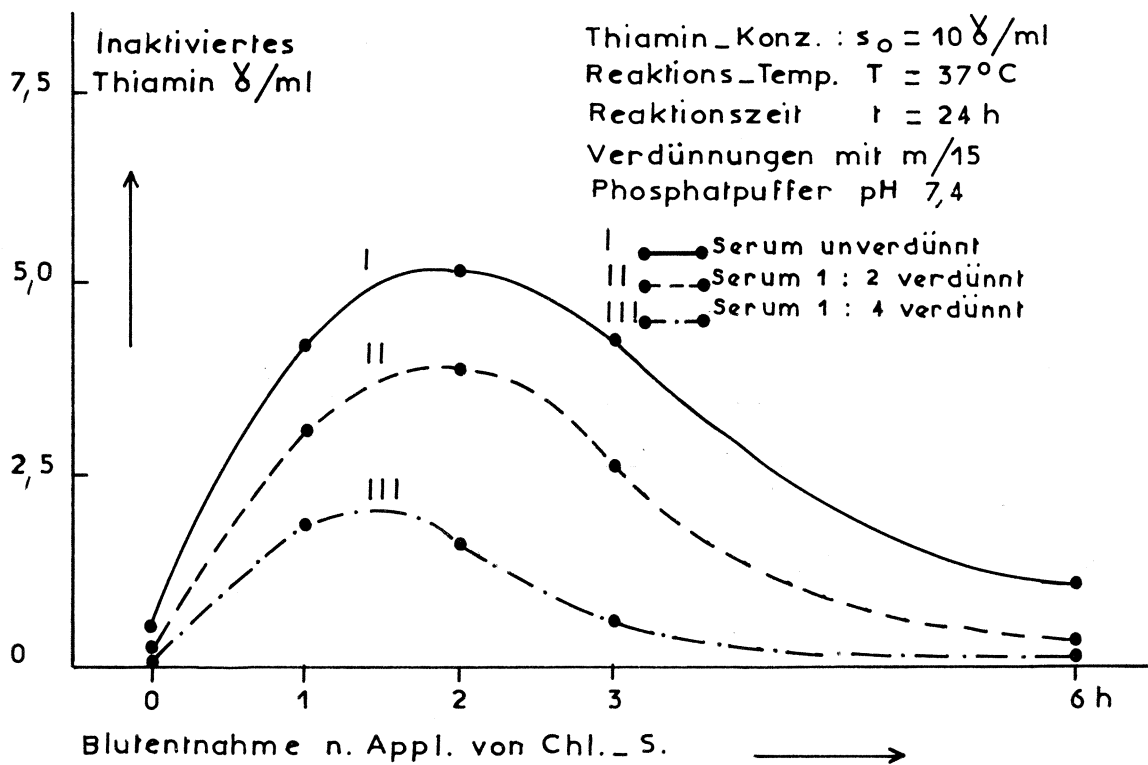
Die Ergebnisse der an Kaninchen durchgeführten Versuche sind in Tab. 2 und Abb. 4 zusammengestellt. Hiernach verfügt das Blutserum von Kaninchen offenbar über thiamininaktivierende Eigenschaften, wenn die Versuchstiere zuvor mit hohen Chlorogensäuredosen gefüttert worden sind. Der höchste Antithiaminspiegel wird 2 Stunden nach der oralen Applikation der Chloro-

TABELLE 2
**Antithiamin-Aktivität des Blutserums
 von Kaninchen nach oraler
 Applikation von Chlorogensäure (Chl.-S)**

Blutentnahme Stunden n. Chl.-S.- Applikation	Serum Verdünnung	Thiamin-Inaktivierung (γ /ml) nach einer Reaktionszeit von	
		24 h	48 h
0 Ktr.	unverdünnt	0,5	0,9
	1 : 2	0,2	0,4
	1 : 4	0	0,2
1	unverdünnt	4,2	5,4
	1 : 2	3,1	3,9
	1 : 4	1,8	2,4
2	unverdünnt	5,1	6,4
	1 : 2	3,8	4,5
	1 : 4	1,5	2,2
3	unverdünnt	4,2	4,8
	1 : 2	2,6	3,0
	1 : 4	0,5	0,8
6	unverdünnt	1,0	1,2
	1 : 2	0,2	0,5
	1 : 4	0	0,2

gensäure erzielt. Danach nimmt die Antithiaminaktivität des Serums ab und erreicht 6 Stunden nach der oralen Applikation der Chlorogensäure Werte, die relativ gering, aber noch eindeutig nachweisbar sind. Die Antithiaminaktivitäten der 1 : 2 bzw. 1 : 4 verdünnten Seren sind entsprechend der Verdünnung geringer als die der unverdünnten Seren.

Abb. 4. — Antithiamin-Aktivität des Blutserums von Kaninchen nach oraler Applikation von Chlorogensäure (Chl.-S.)



DISKUSSION

Auf Grund der erhaltenen Versuchsergebnisse kann angenommen werden, dass die thiamininaktivierende Wirkung des Kaffees im wesentlichen auf die in ihm enthaltene Chlorogensäure zurückführbar ist. Dafür spricht neben der pH-Abhängigkeit und der Reaktionskinetik (Reaktion 1. Ordnung) vor allem das Ausmass der Thiamininaktivierung des Kaffees. 540 γ Kaffee besitzen die gleiche Antithiaminaktivität wie 10-12 γ Chlorogensäure. Das sind etwa 2 % und entspricht in etwa dem Chlorogensäuregehalt des Kaffee. Es kommen im Kaffee auch andere o-Diphenole vor, wie Kaffeensäure und Brenzkatechin, allerdings nur in sehr geringer Konzentration. Sie spielen im Vergleich zur Chlorogensäure hinsichtlich der Antithiaminaktivität des Kaffees nur eine untergeordnete Rolle. Die thiamininaktivierende

Wirkung des Kaffees ist also im wesentlichen auf die Chlorogensäure zurückzuführen.

Die Chlorogensäure besitzt auch unter In vivo-Bedingungen Antithiamin-Aktivität. Das geht eindeutig aus den Ergebnissen der Tierversuche hervor. Um dies nachzuweisen, ist es aber notwendig, verhältnismässig grosse Chlorogensäuredosen den Versuchstieren oral zu applizieren. Ob die beim üblichen Kaffeegenuss vom Menschen aufgenommenen Chlorogensäuremengen zu einer nennenswerten Thiamininaktivierung im Organismus führen, muss als fraglich angesehen werden. Es könnte dies aber bei solchen Personen vermutet werden, die gewohnheitsmässig grosse Mengen Kaffee zu sich nehmen. Hierüber sollen noch eingehende Untersuchungen durchgeführt werden.

LITERATUR

1. BERÜTER, J. and J. C. SOMOGYI. — 3, 4-Dihydroxycinnamic Acid, an Antithiamin Factor of Farn. *Experientia*, **23**, 996 (1967).
2. BÖNICKE, R. und H. KRÖGER. — Antimikrobielle Stoffe in Farnen und ihre Beziehungen zur Thiaminase. Jahresber. Borstel 1952/53.
3. BÖNICKE, R. — Die Wirkung Thiaminase enthaltender Farne auf das Wachstum Thiamin-heterotropher Mikroorganismen. *Zbl. Bakter. I. Abtlg. Orig.*, **160**, 202 (1953).
4. CZOK, G. — Untersuchungen über die Wirkung von Kaffee. *Z. Ernährungswiss. Suppl.*, **5** (1966).
5. EVANS, W. C., N. R. JONES and R. A. EVANS. — The mechanism of the antianeurin activity of braken (*Pteris aquilina*). *Biochem. J.*, **46**, 12 (1950).
6. KÜNDIG, H. und J. C. SOMOGYI. — Antithiaminwirkstoffe in pflanzlichen Nahrungsmitteln. *Int. Z. Vitaminforsch.*, **34**, 135-141 (1964).
7. SOMOGYI, J. C. — Inactivation of aneurin by extracts of animal and plant tissues. *Int. Z. Vitaminforsch.*, **21**, 341 (1949).
8. SOMOGYI, J. C. und A. V. MURALT. — Inaktivierung von Aneurin durch Farnkrautextrakte. *Helv. physiol. pharmac. Acta*, **7**, C 56 (1949).
9. SOMOGYI, J. C. and R. BÖNICKE. — Connection between Chemical Structure and Antithiamine Activity of Various Phenol Derivatives. *Int. Z. Vitaminforsch.*, **39**, 65-73 (1969).

Prof. Dr. rer. nat. R. BÖNICKE, Forschungsinstitut für Experimentelle Biologie und Medizin, D-2061 Borstel.

Priv. Doz. Dr. med. G. CZOK, Pharmakologisches Institut der Universität 2000 Hamburg 20, Martinstr. 52.

BÖNICKE (R.), CZOK (G.). — **La question de l'activité anti-thiaminique du café.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 209-214, fig., tabl., réf.

Les o-diphénols présentent, selon SOMOGYI et BÖNICKE (*Z. Vitaminforsch.*, 1969), des propriétés inactivantes de la thiamine. A ces substances appartiennent des composés tels que

BÖNICKE (R.), CZOK (G.). — **The anti-thiamine action of coffee.** Quatrième Colloque international sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 209-214, fig., tabl., réf.

According to SOMOGYI and BÖNICKE (*Z. Vitaminforsch.*, 1969) the o-diphenols display thiamine inactivating properties. Pyrocatechins, caf-

BÖNICKE (R.), CZOK (G.). — **Zur Frage der Antithiaminaktivität des Kaffees.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 209-214, fig., tabl., réf.

Nach SOMOGYI und BÖNICKE (1969) besitzen o-Diphenole thiamininaktivierende Eigenschaften. Zu den o-Diphenolen gehören Stoffe, wie Brenzkatechin, Kaffeensäure und Chlorogen-

pyrocatechine, acide caféique et acide chlorogénique; ce dernier se trouve en quantités importantes dans de nombreux aliments et en particulier dans le café. L'activité antithiaminique des *o*-diphénols et du café dépend largement du pH et augmente nettement avec l'alcalinité du substrat. Des essais sur des lapins recevant des doses importantes (250 mg/kg) d'acide chlorogénique par voie orale ont montré une inactivation de la thiamine ajoutée au sérum sanguin. En ce qui concerne une inactivation notable de la thiamine dans l'organisme, après absorption de doses d'acide chlorogénique correspondant à l'ingestion habituelle de café, la question reste posée et doit être étudiée précisément.

feic and chlorogenic acids belong to the group of these substances; the latter is met in important quantities in various food products and particularly in coffee. The anti-thiamine activity of the *o*-diphenols and of coffee depends largely on the pH and increases appreciably with the alkalinity of the substratum. Tests on rabbits receiving important oral doses (250 mg/kg) of chlorogenic acid have demonstrated the inactivation of thiamine added to blood serum. With regard to the notable inactivation of thiamine in the organism after ingestion of chlorogenic acid dosages corresponding to the usual ingestion of coffee, the question remains unanswered and must be exactly investigated.

säure. Letztere findet sich in grösserer Menge in vielen Nahrungsmitteln, unter anderem auch im Kaffee. Die thiamininaktivierende Wirkung der *o*-Diphenole und des Kaffees ist in starkem Masse pH-abhängig und nimmt mit der Alkalität des Substrates deutlich zu. Versuche an Kaninchen, die hohe Chlorogensäuredosen (250 mg/kg Körpergewicht) oral erhielten, ergaben eine Thiamininaktivierung des Blutserums, wenn diesem Thiamin zugesetzt wurde.

Ob die beim üblichen Kaffeegenuss aufgenommenen Chlorogensäuremengen zu einer nennenswerten Thiamininaktivierung im Organismus führen, wird als fraglich angesehen und soll noch genauer untersucht werden.

DISCUSSION

M. EICHLER : Sie werden ja selbst wissen, dass nicht nur die Chlorogensäure des Kaffees, sondern dass es eine ganze Reihe von Substanzen in unseren Tees, in den gewöhnlichen und anderen Tees, gibt, die Gerbsäure enthalten, die auch in diese Richtung führen könnten. Da wir besonders bei Vitamin B 1 im Grunde genommen durch den starken Weissbrotverbrauch immer an der Grenze desjenigen schweben, wo noch keine Mangelerscheinungen auftreten, wäre dies hier von grosser Wichtigkeit.

DER KOHLENHYDRAT-FETTSTOFFWECHSEL UNTER DEM EINFLUSS VON KAFFEE UND COFFEIN

K. MÜLLER-WIELAND

Medizinische Universitäts-Klinik, Hamburg-Eppendorf

Wegen widersprüchlicher Angaben, ob Kaffee oder Coffein das Verhalten des Blutzuckers beeinflussen, wurde dieses Problem in den letzten Jahren wiederholt

aufgegriffen, weil einerseits der Kaffeekonsum einen beträchtlichen Umfang angenommen hat und andererseits die Frequenz an Zuckerkranken ständig zunimmt.

VERÄNDERN METHYLXANTHINE DEN BLUTZUCKERSPIEGEL ?

Es interessieren besonders Kaffee und Coffein.

JANKELSON u. Mitarb. untersuchten Altersdiabetiker. Sie fanden eine Verschlechterung der Glukosetoleranz nach Trinken von Kaffee (12). Da die Steigerung des Blutzuckers, der im venösen Blut gemessen wurde, nur geringfügig war, stellte BURNS-COX zur Diskussion, ob diese Unterschiede auf die Abnahme der Kreislaufzeit zurückzuführen sei (4). CHERASKIN u. RINGSDORF (7) überprüften mit ihren Mitarb. aus Alabama den Blutzucker bei Studenten. Die Differenzen im Blutzuckerniveau zwischen der Coffein- und Placebogruppe waren nach 30 und 120 min. statistisch signifikant. Ferner teilten die Autoren ihre Probanden in 2 Gruppen : Gesunde und solche, die eine Reihe von körperlichen Beschwerden hatten. Hierbei zeigte sich erneut, dass 2 Stunden nach Einnahme von Coffein bei denen, die verschiedene Klagen vorbrachten, der Blutzucker statistisch signifikant höher lag als bei der gesunden Kontrollgruppe (8). GIORDANO u. POMPEI jedoch fanden bei Gesunden in einem Zeitraum bis zu 3 Stunden nach Einnahme von Kaffee, Wasser und Coffein-Natriumbenzoat keine signifikanten Änderungen des Blutzuckerspiegels (9). BELLET überprüfte das Blutzuckerverhalten, den Gehalt an freien Fettsäuren und immunoreaktivem Insulin im Serum bei 23 Gesunden, die ein Glukosegetränk erhielten mit und ohne 5 g Instantkaffee. Bei den Personen die im Vergleich zur Kontrollgruppe Kaffee und Glukose zu sich genommen hatten, war der Blutzuckerspiegel, 30-60 Minuten nach der Einnahme des Getränkes gerin-

ger, als wenn die Glukose alleine genossen würde. 3 Stunden nach Einnahme dieses Probegetränkes war der Spiegel an freien Fettsäuren bei den Probanden, die Glukose mit Kaffee erhielten, signifikant höher als in der Vergleichsgruppe. Bezüglich des immunoreaktiven Insulins im Blut ergab sich jedoch in beiden Gruppen keine statistischsignifikanten Unterschiede. BELLET stellte zur Diskussion, ob Coffein den postprandialen Blutzuckergipfel durch die Mobilisation eines Hormons aus dem Gastrointestinaltrakt senkt, wie zum Beispiel Sekretin, Pankrezymmin oder eine Glukagon-ähnliche Substanz.

Auch bei Hunden war der Blutzuckerspiegel bei einem oralen Glukosetoleranztest nach Gabe von Coffein 30,60 und 90 Minuten nach Aufnahme des Kaffees signifikant niedriger als in der Vergleichsgruppe. Wurde das Coffein intramuskulär verabreicht, so kam es ebenfalls zu einer Senkung des Blutzuckerspiegels. Beim intravenösen Glukosetoleranztest waren die Differenzen jedoch weniger auffällig.

Wir untersuchten die Glukosetoleranz (Glukoseoxydase-Methode) bei nicht-insulinbedürftigen Altersdiabetikern mit einem Durchschnittsalter von 65,4 Jahren. 20 Minuten nach Trinken von coffeinhaltigem oder coffeinarmem Kaffee oder Wasser erhielten 21 Personen 0,5 g Glukose per kg Körpergewicht intravenös appliziert. Der coffeinhaltige Trunk enthielt etwa 180 bis 200 mg Coffein und der coffeinarme weniger als 8 mg. Das Blutzuckerverhalten wies nach den 3 genannten

Getränken keinerlei Differenzen auf. Bei einer 2. Gruppe von 11 nicht-insulinbedürftigen Altersdiabetikern mit einem Durchschnittsalter von 59,1 Jahren prüften wir 20 Minuten nach Genuss von coffeinhaltigem oder coffeinarmem Kaffee die orale Glukosetoleranz nach Gabe von 0,5 g Glukose per kg Körpergewicht. Hierbei war der Blutzucker 15-75 Minuten nach der Glukosebelastung nach Gabe des coffeinhaltigen Kaffees höher als nach Gabe von coffeinarmem Kaffee oder Wasser. Die Unterschiede waren jedoch geringfügig und p stets grösser als 0.1. Zu gleichen Ergebnissen kamen wir bei 14 Nichtdiabetikern mit einem Durchschnittsalter

von 66,5 Jahren. Auch in dieser Gruppe bestand keine statistisch signifikante Differenz. (Unter Mitarbeit von Herrn Dr. W. Berndt u. Herrn H. Trautmann).

Diese und zahlreiche Untersuchungen anderer Autoren zeigen, dass Coffein dem Blutzucker offenbar nur bei jüngeren Menschen zu beeinflussen vermag und das, wie die Ergebnisse von BELLET zeigen, wohl überwiegend eine Blutzuckersenkung zustande kommt, bei der möglicherweise das Freiwerden von gastrointestinalen Hormonen beteiligt ist, über deren physiologische Bedeutung noch nichts endgültiges bekannt ist.

LÄSST SICH EINE VERÄNDERUNG IM KOHLENHYDRATSTOFFWECHSEL DURCH METHYDXANTHINE AN TIEREN ODER GEWEBEN FINDEN ?

Bei einer besonderen Mäuseart mit dem hereditären Syndrom einer Fettsucht und Hyperglykämie ergaben sich beachtenswerte Resultate. Solche Tiere sind extrem fett und träge. Sie fressen viel und sind trotz hoher zirkulierender Insulinaktivität hyperglykämisch. Sie haben eine Hypercholesterinämie, sind extrem empfindlich gegen Kälte und relativ insulinresistent. Das Fettgewebe dieser Tiere zeigt bei verminderter Glukoseaufnahme eine grosse Lipogenesekapazität aus Azetat. Bei diesen Tieren führte eine einzige Injektion von Coffein oder der Ersatz des Trinkwassers durch Kaffee für die Dauer von 1 Woche zu einer drastischen und über 2 und mehr Monate andauernden Erhöhung des Blutzuckers. Die Ergebnisse sind schwierig zu interpretieren, weil die Untersuchungen an Tieren mit einer eigenartigen Stoffwechseleränderung durchgeführt worden sind. Der Mechanismus dieser angeborenen Abweichung ist noch unklar. Aber die Beobachtung zeigt eindrucksvoll den Einfluss von Kaffee bzw. Coffein auf den Kohlenhydratstoffwechsel (13).

Auch bei Hunden liess sich nach Gabe von Aminophyllin ein Anstieg der Glukose zeigen, der durch Adrenalingaben noch gesteigert werden konnte. Gleichzeitig bestanden neben einer signifikant vermehrten Sauerstoffaufnahme noch eine Erhöhung an freien Fettsäuren und Glycerin im Blut (24).

Die Glukoseaufnahme aus « Krebs » Bikarbonatpuffer durch isoliertes Rattennebenhodenfettgewebe wurde durch Coffein gehemmt. Auch nach Theophyllingaben steigen bei Ratten Blutzucker, Laktat, freie Fettsäuren und Glycerin geringgradig an. Ferner zeigte sich, dass Harnsäure, ein anderer Purinkörper, in vitro auf das Rattenfettgewebe keinen Einfluss auf den Glukosestoffwechsel ausübt. Die Wirkung von Coffein scheint demnach nicht an seine Purinstruktur gekoppelt zu sein (1,2).

Die Wirkung von Coffein scheint demnach nicht an seine Purinstruktur gekoppelt zu sein (1,2).

WIE BEEINFLUSSEN METHYDXANTHINE DIE SEKRETION VON INSULIN ?

Aus isoliertem fötalen Pankreasgewebe setzt Coffein Insulin frei. Die Insulinabgabe nach Glukagon oder Tolbutamide wird durch Coffein erheblich gesteigert. Die Insulinsekretion aus den Betazellen ist vom intrazellulären Gehalt an cyklischen Adenosine-3,5-Monophosphat (CAMP) abhängig. Glukagon und Tolbutamid stimulieren das Adenylzyklasesystem. Das CAMP wird aber rasch durch die Phosphodiesterase katabolisiert. Coffein hemmt die Phosphodiesterase und kann somit die Glukagon — bzw. Tolbutamidwirkung hinsichtlich der gesteigerten Insulinsekretion nachahmen (14).

Theophyllin führt bei adrenaletomierten Ratten zum prompten Anstieg des Plasmainsulins, der schon 1 Minute nach Theophyllingabe einsetzt. Hierbei steigt die Plasmainsulinkonzentration bis auf das 10 fache des Ausgangswertes an, erreicht ihr Maximum nach 5-10 Minuten und dauert etwa 20-30 Minuten. Diese Insulinausschüttung nach Theophyllin stellt keine Folge des gleichzeitigen leichtgradigen Blutzuckeranstieges dar, weil bei Erhöhung des Blutzuckers durch Glukoseinfusion das Plasmainsulin nur minimal zunimmt und auch der Anstieg des Plasmainsulins nach Theophyllin noch bestehen

bleibt, wenn der Blutzucker zum Ausgangswert zurückgekehrt ist (25).

α -adrenergische Rezeptoren vermitteln den Hemmeffekt von Adrenalin auf die Insulinsekretion, während die β -adrenergische Stimulierung die Insulinsekretion fördert. Theophyllin, das 10 Minuten nach Gabe von Adrelin gegeben wird, führt zu einem prompten Anstieg der Insulinsekretion um das 8-fache. Die Anwesenheit eines α -adrenergischen Blockers bei Adrenalininfusion lässt die Insulinabgabe nach Theophyllin sogar auf das 40-fache ansteigen. Wird dagegen während der Adrenalininfusion auch eine β -adrenergische Blockade durchgeführt, bleibt der Anstieg des Insulins im Plasma nach Theophyllin aus. Diese Ergebnisse zeigen, wie α - und β -adrenergische Rezeptoren in den Inselzellen unterschiedliche Wirkungen des Adrenalins auf die CAMP-Synthese vermitteln: α -Rezeptoren hemmen und β -Rezeptoren steigern die Bildung dieses zyklischen Nucleotids. Aus diesen Untersuchungen ergibt sich ferner, dass Katecholamine und Methylxanthine unter-

schiedliche Wirkungsmechanismen haben (16, 18, 25).

Das CAMP ist bei einer Vielzahl von verschiedenen Prozessen zu finden, welche Enzyme aktivieren. Es ist daher zu erwarten, dass Coffein auch andere Stoffwechselprozesse beeinflusst, die mit dem Regulationsmechanismus des Kohlenhydratstoffwechsels verzahnt sind. Die Hemmung des enzymatischen Abbaus des CAMP durch Methylxanthine führt durch die Potenzierung der Hormonwirkung zu einem hormonähnlichen Effekt dieser Substanzen. Glukagon und Adrenalin verändern die Abgabe des Wachstumshormons aus der Hypophyse nicht, aber Theophyllin vermag die Sekretion dieses Hormons signifikant zu steigern. Jedoch wird die ACTH-Wirkung auf die Steroidsekretion der Nebennierenrinden, an der CAMP beteiligt ist, durch Theophyllin nicht im selben Ausmass wie die Insulinsekretion beeinflusst. Eine Erklärung für diese Diskrepanz mag darin bestehen, dass hohe Theophyllinkonzentrationen die Eiweissynthese im Nebennierenrindengewebe hemmen (11, 21).

DER FETTSTOFFWECHSEL UNTER DEM EINFLUSS VON METHYLXANTHINDERIVATEN

Unveresterte Fettsäuren und Glycerin werden bei der enzymatischen Hydrolyse von Neutralfetten im Fettgewebe (Lipolyse) als Spaltprodukte an das Blut abgegeben. Viele Organe nehmen die unveresterten Fettsäuren auf und bestreiten durch deren Oxydation einen grossen Teil ihres Energiebedarfs. Hierdurch wird eine kontinuierliche Versorgung der Organe mit energiereichen Substanzen gewährleistet, weil die Kohlenhydratvorräte des Organismus beschränkt sind und Nahrungsaufnahme rhythmisch erfolgt. Bei der Aufrechterhaltung einer kalorischen Homöostase durch die freien Fettsäuren sind nerval das sympathische Nervensystem und humoral Hormone beteiligt.

Eine Steigerung der Lipolyse erfolgt durch Aktivierung einer spezifischen Triglyzeridlipase über die vermehrte intrazelluläre Bildung von zyklischem Adenosin-3,5-Monophosphat aus ATP. Die Reaktion wird durch das Zellmembran-ständige Enzym Adenylcyclase katalysiert und kann z. B. durch Noradrenalin aktiviert werden. Gebildetes zyklisches Adenosin-3,5-Monophosphat wird durch das Enzym Phosphodiesterase inaktiviert. Eine Hemmung dieses Enzyms durch die Methylxanthine Theophyllin und Coffein führt deshalb zu einem Anbau von zyklischem-3,5-Monophosphat in der Fettgewebszelle und löst eine Lipolyse-Steigerung aus. Andere Hormone, wie z. B. die Glukagon, ACTH, thyreotropes Hormon und Sekretin, deren primäres Ziel Organ nicht das Fettgewebe ist, können ebenfalls

durch Aktivierung der Adenylzyklase lipolytisch wirken; ihre physiologische Bedeutung für die Lipolyse ist jedoch unklar.

Insulin hat eine hemmende Wirkung auf die Lipolyse. Insulin ist wahrscheinlich der humorale Gegenspieler des Sympathikus. Auch das körpereigene Prostaglandin E₁ wird einer Hemmwirkung der Lipolyse zugeschrieben. Beide Hemmstoffe bremsen die Bildung des zyklischen-3,5-Monophosphats und Insulin fördert darüberhinaus auch die Reveresterung der schon freigesetzten unveresterten Fettsäuren.

BUTCHER, ROBINSON u. SUTHERLAND fanden, dass die lipolytischen Hormone Katecholamine, ACTH, Glukagon, steroidstimulierende Hormone, luteinisierende Hormone u. a. am Adenylzyklasesystem und nicht an der Phosphodiesterase ansetzen. Die Hypothese wird noch zu überprüfen sein, weil es noch kein Adenylzyklase-system gibt, das frei von Phosphodiesterase ist. Aber der synergistische Effekt der Hormone mit dem der Methylxanthine, von denen man weiss, dass sie die Phosphodiesterase hemmen, lässt vermuten, dass diese Hormone die Adenylzyklase stimulieren. Auch steigern diese Hormone die Bildung des CAMP aus exogenem ATP in zellfreien Präparationen, deren Gehalt an Phosphodiesterase minimal ist. Immerhin kann eine Wirkung auf die Phosphodiesterase nicht ausgeschlossen werden, zumal die Konzentration dieser Enzyme viel höher als die der Adenylzyklase liegt (5).

BEIM DIABETES MELLITUS KOMMT DEM GLUKOSE-FETTSÄURE-ZYKLUS EINE BESONDERE BEDEUTUNG ZU.

WIE WIRKEN SICH METHYLXANTHINE AUF DIESEN STOFFWECHSEL AUS ?

Die Beobachtung, dass bei einigen endokrinen und Ernährungskrankheiten eine hohe Konzentration an nicht veresterten freien Fettsäuren besteht, liess die Vermutung über eine kausale Beziehung aufkommen (19, 26). Diese wurde als eine biochemische Entität aufgefasst und von RANDLE u. Mitarb. als das « Glukose-Fettsäure-Syndrom » bezeichnet. Diese Beziehung wird bei folgenden Zuständen erkennbar :

Diabetes mellitus, Hunger, Kohlenhydratmangel, Akromegalie, Cushingsyndrom, nach Gabe von ACTH oder Glukosteroiden und wahrscheinlich auch bei Fettleibigkeit. So konnten z. B. GIORDANO u. POMPEI zeigen, dass Coffein bei Ratten zwar den Blutzucker unbeeinflusst lässt, aber einen deutlichen adipokinetischen Effekt hat, der sich im Anstieg der freien Fettsäuren erkennen lässt (9).

Wie Glukose und Fettsäure alternativ in den Energiestoffwechsel der Gewebe einbezogen werden können, findet besonderes Interesse. Beim Diabetes mellitus besteht nämlich einerseits eine Neigung zur vermehrten Mobilisation von Fettsäuren und andererseits die Tendenz, die Fettsäuren gegenüber Glukose, deren Utilisation inhibiert ist, bevorzugt zu verstoffwechseln. Die vermehrte oxydative Metabolisierung von Fettsäuren in der Muskulatur führt zum verminderten Abbau der Glukose und schafft damit eine Stoffwechselbedingung, wie sie für den Diabetes charakteristisch ist. RANDLE hat aus dieser, wie er annimmt, reziproken Relation zwischen der Metabolisierung von Glukose und Fettsäure das Konzept eines « Glukose-Fettsäure-Zyklus » entwickelt (20). Beim experimentellen Diabetes könnte die abnorme Glukoseutilisation verbessert werden, wenn das Fettsäureangebot verringert wird. Auch in vivo hat sich demonstrieren lassen, dass ein reichliches Angebot an Fettsäuren zur Verminderung der Aufnahme von Glukose führt. Diese Auffassung von RANDLE ist jedoch nicht unwidersprochen, weil die für den Diabetes charakteristischen Verwertungsstörungen der Glukose auch weiter bestehen bleibt, wenn der Spiegel der freien Fettsäuren beträchtlich abfällt (23). Andererseits werden der Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel durch das Insulin verknüpft, welches auch eine Wirkung auf das Fettgewebe ausübt, indem es die Akkumulation des CAMP verringert. Glukagon und adrenokortikotropes Hormon stimuliert die Lipolyse im Fettgewebe. Die Wirkung dieses Hormons wird wahrscheinlich auch durch CAMP übertragen (22). Coffein vermag den lipolytischen Effekt beider Hormone zu potenzieren und steigert die Aktivität des CAMP in diesem Gewebe um das 4- bis 5-fache. Es entwickelt somit einen kontrain-sulinären Effekt.

AMMON u. ESTLER überprüften den Einfluss von Coffein auf Blutzucker, freier Fettsäure und Ketonkörper im Serum bei Aloxan-Diabetes. Die Stoffwechselstörungen beim Diabetes, nämlich den Anstieg des Blutzuckers und den Anstieg der freien Fettsäuren, sind Folge des Insulinmangels. Coffein löst Änderungen im Kohlenhydrat- u. Fettstoffwechsel aus, die aber mit grosser Wahrscheinlichkeit im Zusammenhang mit der Hemmung der 3,5-AMP-Phosphodiesterase im Zusammenhang stehen. Das sind also 2 verschiedene Mechanismen, die zu ähnlichen Änderungen führen. Die Autoren haben den Einfluss verschiedener hoher Coffeinmengen auf den Blutzuckerspiegel, den Gehalt des Serums an freien Fettsäuren und Keton-Körpern, sowie den Fettgehalt der Leber bei Mäusen untersucht, die sich 5-7 Tage nach intravenöser Verabreichung von 70 mg pro kg Körpergewicht Aloxan im akuten Stadium des Aloxan-Diabetes befanden. — Bei den Kontrolltieren kam es 2 Stunden nach subkutaner Injektion von Coffein zur Abnahme des Leberglykogens, zu einer geringfügigen Zunahme des Blutzuckers sowie zum deutlichen Anstieg der freien Fettsäuren, des Acetons und der Beta-oxybuttersäure im Serum sowie des Fettgehaltes in der Leber. Bei den diabetischen Tieren fanden sich bei unveränderten Leberglykogenen ein Blutzuckerspiegel von 360 mg %, ein Anstieg der freien Fettsäuren und Ketonkörpern im Serum sowie eine Zunahme des Leber-Fettgehaltes. Behandelte man die diabetischen Tiere zusätzlich mit Coffein, so kam es ausgehend von den bereits erhöhten Werten zu einem weiteren Anstieg des Blutzuckers, der freien Fettsäuren und Ketonkörpern im Serum sowie des Fettgehaltes in der Leber (28).

BELLET aus Philadelphia untersuchte die Wirkung von Kaffee, entkoffeiniertem Kaffee und einem Kontrollgetränk auf den Gehalt an freien Fettsäuren im Serum bei Menschen und an Hunden. Sowohl nach Kaffee als auch nach Coffein trat eine Erhöhung der freien Fettsäuren auf, die signifikant war und ihren Gipfel nach 3-4 Stunden erreichte. Die Gabe von Rohrzucker verminderte signifikant diesen Effekt des Anstiegs an freien Fettsäuren. Der Anstieg der freien Fettsäuren nach Einnahme von entkoffeiniertem Kaffee war deutlich geringer als nach Einnahme von Kaffee und war ähnlich dem der nach Einnahme des Kontrollgetränkes auftrat (29).

Die Verzahnung des Glukose- und Fettstoffwechsels kommt weiterhin durch die Wirkung des Wachstumshormons zum Ausdruck (10). Auch hier hat Theophyllin eine potenzierende Wirkung auf die Lipolyse, die durch kleine Mengen von Wachstumshormon zustande kommen.

SCHLUSSFOLGERUNG

Beim Menschen sind die Veränderungen des Blutzuckers nach Coffein gering oder — besonders bei älteren Menschen — nicht sicher nachweisbar. Experimentelle Untersuchungen an Tieren oder Geweben dagegen offenbaren bedeutungsvolle Abweichungen, nicht nur im Kohlenhydrat — sondern auch im Fettstoffwechsel. Begünstigt Coffein eine diabetische Stoffwechsellaage, die sich zunächst klinisch noch nicht manifestiert aber doch schon zu degenerativen Gefäßprozessen führt? PAUL u. Mitarb. berichteten aus Chicago in einer prospektiven epidemiologischen Studie von 4 1/2-jähriger Dauer, dass der höchste Kaffeekonsum unter den Herzinfarktpatienten gefunden werden konnte. 19 % der Infarktpatienten, aber nur 7 % der Kontrollgruppe, tranken mehr als 200 Tassen pro Monat. Allerdings

befinden sich unter den Männern, die mehr als 7 Tassen Kaffee pro Tag trinken, gleichzeitig auch die stärksten Zigarettenraucher (17).

In einer in England durchgeführten Untersuchung wurde dagegen ermittelt, dass mit dem ansteigenden täglichen Kaffeekonsum die Infarktletalität abnahm (3). Aus Toronto wurde berichtet, dass eine signifikante Korrelation zwischen Kaffeetrinken und der Konzentration an Serumlipiden und Lipoproteiden beim Menschen mit einer coronaren Herzkrankheit, aber nicht bei den Gesunden bestünde (15).

Wir werden in der theoretischen und in der klinischen Medizin diese Probleme weiter zu untersuchen haben, wenn wir den Konsum von mehreren Millionen Tonnen Kaffee pro Jahr als unschädlich bezeichnen wollen.

LITERATUR

- ANDERSON, J., OWEN, J. A. — Caffeine and carbohydrate metabolism. *Lancet*, 1967, 11, 154.
- ANDERSON, J., HOLLIFIELD, G. and OWEN, J. A. — Inhibitory effect of caffeine on the in vitro uptake of glucose by rat epididymal adipose tissue. *Diabetologia*, 3, 50 (1967).
- BROWN, A. — Coronary thrombosis; an environmental study. *Brit. Med. J.*, 5304, 567 (1962).
- BURNS-COX, C. J. — Coffee and glucose tolerance. *Lancet*, 1967, I, 901.
- BUTCHER, R. W., BAIRD, C. E., SUTHERLAND, E. W. — Effects of lipolytic and antilipolytic substances on adenosine 3', 5'-monophosphate levels in isolated fat cells. *J. biol. Chem.*, 243, 1705 (1968).
- BUTCHER, R. W., SNEYD, J. G. T., PARK, C. R., SUTHERLAND, W. — Effect of insulin on adenosine 3', 5'-monophosphate in the rat epididymal fat pad. *J. biol. chem.*, 241, 1651 (1966).
- CHERASKIN, E., RINGS DORF, W. M., SETYAAD-MADJA, A. T. S. H., BARRETT, R. A. — Effect of caffeine versus placebo supplementation on blood-glucose concentration. *Lancet*, 1967, I, 1299.
- CHERASKIN, E., and RINGS DORF, W. M. — Blood-glucose levels after caffeine. *Lancet*, 1968, I, 689.
- GIORDANO, G., POMPEI, A. — Adipokinetic effect of caffeine. *Arch. « E. Maragliano » Patol. Clin.*, 23, 3, 311 (1967).
- GOODMAN, H. M. — Effects of growth hormone on the lipolytic response of adipose tissue to theophylline. *Endocrinology*, 81, 1027 (1968).
- HALKERSTON, I. D. K., FEINSTEIN, M., and HECHTER, O. — An Anomalous effect of theophylline on ACTH and adenosine 3', 5'-monophosphate stimulation. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 122, 896 (1966).
- JANKELSON, O. M., BEASER, S. B., HOWARD, F. M., and MAYER, J. — Effect of coffee on glucose tolerance and circulating insulin in men with maturity-onset diabetes. *Lancet*, 1967, I, 527.
- KUFTINEC, D. M., and MAYER, J. — Extreme sensitivity of obese hyperglycemic mice to caffeine and coffee. *Metabolism*, 13, 1369 (1964).
- LAMBERT, A. E., JEANRENAUD, B., and RENOLD, A. E. — Enhancement by caffeine of glucagon-induced and tolbutamide-induced insulin release from isolated foetal pancreatic tissue. *Lancet*, 1967, I, 819.
- LITTLE, J. A., SHANOFF, H. M., SCIMA, A., and YANO, R. — Coffee and serum-lipids in coronary heart-disease. *Lancet*, 1966, I, 732.
- MALAISSÉ, W. J., MALAISSÉ-LAGAE, F., and MAYHEW, D. — A possible role for the adenylylase system in insulin secretion. *J. clin. Invest.*, 46, 1724 (1967).
- PAUL, O., LEPPER, M. H., PHELAN, W. H., DUPERTUIS, G. W., MacMILLAN, A., McKEAN, H., and PARK, K. — A longitudinal study of coronary heart disease. *Circulation*, 28, 20 (1963).
- POYAET, C., and NAHAS, G. G. — Metabolic effects of theophylline and norepinephrine in the dog at normal and acid pH. *Amer. J. Physiol.*, 212, 1247 (1967).
- RANDLE, P. J. — Carbohydrate metabolism and lipid storage and breakdown in diabetes. *Diabetologia*, 2, 237 (1967).
- RANDLE, P. J., GARLAND, P. B., HALES, C. N., and NEWSHOLME, E. A. — The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet*, 1963, I, 785.
- SCHOFIELD, J. G. — Role of cyclic 3', 5'-adenosine monophosphate in the release of growth hormone in vitro. *Nature*, 215, 1382 (1967).

22. SENFT, G. — Hormonal control of carbohydrate and lipid metabolism and drug induced alterations *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharm. Exp. Path.*, **259**, 117 (1968).
23. TRAGL, K. H., BERINGER, and GEYER, G. — Über den Einfluss einer Senkung der freien Fettsäuren im Plasma durch 3', 5'-Dimethyl-isoxazol auf den Stoffwechsel der Kohlenhydrate *Z. f. ges. exp. Med.*, **147**, 1 (1968).
24. TRINER, L., and NAHAS, G. G. — Effects of theophylline and catecholamines on lipolysis and glycogenolysis in vivo. *J. pharm. a. exper. Therap.*, **153**, 569 (1966).
25. TURTLE, J. R., LITTLETON, G. K., and KIPNIS, D. M. — Stimulation of insulin secretion by theophylline. *Nature*, **213**, 727 (1967).
26. WESTERMANN, E. — Mechanismus and pharmakologische Beeinflussung der endokrinen Lipolyse. In : Die Pathogenese des Diabetes mellitus. Die endokrine Regulation des Fettstoffwechsels. Herausgeber E. Klein, Springer, Berlin, 1967, Seite 154.
27. BELLET, S. — The effect of coffeeine on glucose tolerance : Clinical and experimental studies. Symposium über die Wirkung von Methylxanthinderivaten, Erlangen, 14.10.1968.
28. AMMON, H. P. T. u. ESTLER, C.-J. — Der Einfluss von Coffein auf Blutzucker, freie Fettsäuren und Ketonkörper im Serum bei Alloxan-Diabetes. Symposium über die Wirkung von Methylxanthinen, Erlangen, 14.10.1968.
29. BELLET, S. — The effect of coffeeine on free fatty acids, catecholamines and cortisol excretion : Clinical and experimental studies.

MÜLLER-WIELAND (K.). — **Influence du café et de la caféine sur le métabolisme des hydrates de carbone et des graisses.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 215-221, réf.

Malgré des résultats divergents concernant l'influence du café ou de la caféine sur la glycémie, ce problème a été à nouveau abordé récemment. En effet la consommation mondiale de café a nettement augmenté d'une part, ainsi que le nombre de diabétiques, d'autre part. Existe-t-il un rapport entre ces phénomènes ? On présente dans cet exposé des études publiées par ailleurs et des séries d'essais propres relatifs à l'évolution de la glycémie après ingestion de café ou de caféine ; les résultats obtenus par des essais sur animaux ou sur tissus concernent les modifications du métabolisme des hydrates de carbone et des graisses, et en particulier l'influence de la théophylline, de la caféine et de la théobromine sur la libération de l'insuline. Le changement d'activité du système adénylcyclase surtout est intéressant ; simultanément les méthylxanthines modifient la lipolyse dont l'augmentation et le rôle dans le métabolisme des sucres sont discutés. Ainsi interviennent des processus métaboliques allant à l'encontre de l'action de l'insuline. L'exposé montre quelle importance ces transformations peuvent avoir chez l'homme, ces substances agissant non seulement sur la sécrétion de l'insuline, mais également sur une série d'autres processus métaboliques.

MÜLLER WIELAND (K.). — **Influence of coffee and caffeine on the metabolism of carbohydrates and fats.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 215-221, réf.

In spite of the divergent results concerning the influence of coffee or caffeine on the rate of blood sugar, this problem has been investigated again recently. Actually, world coffee consumption, on one hand, has appreciably increased as has increased, on the other hand, the number of diabetics. Is there a relation between these two phenomena ? In this report are presented investigations published elsewhere and a series of tests related to the evolution of the rate of blood sugar after ingestion of coffee or caffeine ; the results obtained by experiments on animals or tissues concern the modifications of carbohydrate and fat metabolism and particularly the influence of theophylline, caffeine and theobromine on insulin liberation. The change in the activity of the adénylcyclase system especially, is interesting ; simultaneously the methylxanthines modify lipolysis, the increase and the role of which in the metabolism of sugars are discussed. Thus are brought into play metabolic processes counteracting the action of insulin. The report shows the importance which these transformations may be to Man, these substances acting not only on insulin secretion but also on a series of other metabolic processes.

MÜLLER-WIELAND (K.). — **Der Kohlenhydrat-Fettstoffwechsel unter dem Einfluss von Kaffee und Coffein.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 215-221, réf.

Trotz widersprechlicher Angaben, ob Kaffee oder Koffein das Verhalten des Blutzuckerspiegels beeinflusst, wurde dieses Problem in den letzten Jahren wiederholt aufgegriffen, weil einerseits der Kaffeekonsum der Bevölkerung einen beträchtlichen Umfang angenommen hat und andererseits die Frequenz an Zuckererkrankungen ständig zunimmt. Stellt der gewaltige Kaffeekonsum unserer Bevölkerung einen Teilfaktor der zunehmenden Diabetezhäufigkeit dar ? Von mitgeteilten Untersuchungen über das Verhalten des Blutzuckers nach Genuss von Kaffee bzw. Koffein und eigenen Testreihen hierzu ausgehend, werden die Ergebnisse über die Veränderungen im Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel an Tieren oder am Gewebe vorgetragen. Hierbei geht es besonders über den Weg, wie Theophyllin, Koffein und Theobromin die Freisetzung von Insulin beeinflussen. Die Aktivitätsänderung des Adénylzyklasesystems steht im Mittelpunkt des Interesses. Gleichzeitig verändern aber Methylxanthine auch die Lipolyse, deren Steigerung und ihre Bedeutung für den Kohlenhydratstoffwechsel besprochen wird. Demnach kommen Stoffwechselvorgänge zustande, die der Insulinwirkung entgegenlaufen. Da diese Substanzen ein System aktivieren, das nicht nur auf die Insulinsekretion, sondern auch auf eine Reihe anderer Stoffwechselprozesse wirkt, soll das Referat eine Übersicht geben, welche Bedeutung diesen Veränderungen beim Menschen zukommen können.

DISCUSSION

M. LANG : Ich möchte mir eine kurze Bemerkung erlauben zu dieser Frage, die sie angeschnitten haben, der Freisetzung von Insulin. Sie haben auch gesagt, dass die Befunde zwischen Mensch und Tier etwas anders liegen ; dies hat man nicht nur für das Coffein, sondern auch für eine Reihe weiterer Substanzen nachgewiesen. Es wäre vielleicht nützlich, ihre Versuche dahingehend zu erweitern und auch bei anderen Spezies Untersuchungen durchzuführen. Es liegen da einige grosse japanische Untersuchungen vor, die gezeigt haben, dass manche Spezies so und andere wieder so reagieren.

M. STRUBELT : Ich möchte nur in Ergänzung zu den eben gemachten Ausführungen von Prof. Lang darauf hinweisen, dass die Dosen, mit denen im Tierexperiment gearbeitet wird, meist wesentlich höher liegen als die, die man einem Menschen zumuten kann. Man kann auch an der Ratte mit Coffein und Theophyllin in einem normalen Dosisbereich, den man auch bei Menschen anwenden kann — etwa 10 mg/kg Körpergewicht — keine Erhöhung der Blutzuckerwerte feststellen. Gibt man aber Dosen von 60 mg/kg Coffein oder Theophyllin, so kommt es zumindest an der narkotisierten Ratte zu reproduzierbaren und recht erheblichen Steigerungen des Blutzuckers um etwa 50-80 % der Ausgangswerte. Die Dosisfrage spielt dabei sicher eine grössere Rolle als etwaige Speziesunterschiede.

M. ADRIAN : En ce qui concerne les différences entre les espèces je pense qu'il ne faut pas considérer l'homme d'un côté, les animaux de l'autre, mais prendre en considération la manière dont les différentes espèces se nourrissent. L'homme est un animal qui prend deux ou trois repas par jour ; d'autres espèces comme les rongeurs, et par conséquent les rats, sont des animaux qui grignotent, c'est-à-dire qui ne font pas de repas, mais qui mangent de petites quantités à un grand nombre de reprises au cours des 24 h. Ceci peut être en fait à l'origine d'une différence considérable, notamment en ce qui concerne la sécrétion d'insuline et d'autres phénomènes de ce type.

Ce qui je crois pourrait être intéressant, ce serait de transformer les rats en consommateurs de repas, c'est-à-dire les obliger à ingérer leur nourriture en l'espace de 2 h par ex., pour un laps de temps de 24 h (on leur laisserait leur nourriture pendant 2 h, puis on la retirerait pendant 22 h). Dans ces conditions, le rat pourrait peut-être avoir un comportement identique à celui de l'homme.

M. MÜLLER-WIELAND : Ich danke Ihnen, Herr Prof. Lang, für Ihren wertvollen Hinweis. Sicher sind die Unterschiede zwischen den verschiedenen Spezies bedeutungsvoll. Hier ist noch eine grosse Arbeit zu leisten. Zweitens glaube ich, dass die Dosierung von entscheidender Bedeutung ist. Man kann mit hohen Dosen mitunter einen umgekehrten Effekt erreichen. Es ist von entscheidender Bedeutung, ob die Versuchstiere oder Versuchspersonen an den Genuss von Coffein gewöhnt waren. Darüber ist im einzelnen über das Verhalten des Insulins noch nichts bekannt.

DER EINFLUSS DER SCHILDDRÜSENFUNKTION AUF EINIGE WIRKUNGEN VON KAFFEE, COFFEIN UND THEOPHYLLIN *

O. STRUBELT, J. STEFFEN, U. STUTZ

Institut für Pharmakologie der Medizinischen Akademie Lübeck

An narkotisierten Ratten (1,2 g/kg Urethan i. m.) kommt es nach oraler Gabe von Kaffee (10 ml/kg = 9,4 mg/kg Coffein) sowie nach intraperitonealer Injektion von Coffein oder Theophyllin (6,6 und 60 mg/kg) zu langanhaltenden Steigerungen des Energieumsatzes (O_2 -Verbrauch) und der Herzfrequenz. Nach coffein-freiem Kaffee (10 ml/kg = 0,4 mg/kg Coffein) bleiben diese Effekte fast vollständig aus. Die durch Kaffee und Coffein bzw. Theophyllin in kleinerer Dosierung ausgelösten stoffwechselsteigernden und chronotropen Wirkungen beruhen hauptsächlich auf einer Freisetzung körpereigener Sympathicusstoffe. An den stoffwechselsteigernden und chronotropen Effekten höherer Dosen der Methylxanthine (60 mg/kg) ist dagegen auch eine direkte, nichtsympathische Wirkung beteiligt.

Wir erzeugten durch tägliche Injektionen von 0,1 mg/kg Trijodthyronin über 3 Tage eine Hyperthyreose und durch operative Entfernung der Schilddrüse eine Hypothyreose. O_2 -Verbrauch und Herzfrequenz lagen bei den hyperthyreoten Ratten um 44 bzw. 30 % höher, bei den thyreopriven dagegen um 32 bzw. 10 % niedriger als bei den euthyreoten Kontrolltieren.

Die stoffwechselsteigernde Wirkung des coffeinhaltigen Kaffees (10 ml/kg per os) war bei hyperthyreoten Ratten 3 mal so stark, bei thyreoidektomierten Tieren dagegen um 4/5 geringer als bei den euthyreoten Kontrolltieren. Auch bei hyperthyreoten und thyreopriven Ratten beruhten die Wirkungen des Kaffees vorwiegend auf seinem Coffeingehalt. Coffein (60 mg/kg i. p.) und Theophyllin (6,6 ; 20 und 60 mg/kg i. p.) führten ebenfalls bei hyperthyreoten Ratten zu stärkeren, bei den thyreopriven dagegen zu schwächeren Steigerungen des Sauerstoffverbrauchs als bei euthyreoten Kontrolltieren.

In diesen Versuchen waren auch die chronotropen Effekte der Methylxanthine bei Hyperthyreose verstärkt und bei Athyreose abgeschwächt.

Zur Differenzierung der direkten von den indirekt sympathischen Wirkungen der Methylxanthine wurden die körpereigenen Katecholamine durch Entfernung des Nebennierenmarks und Gabe von Reserpin (2 mg/kg i. p.) ausgeschaltet. Dabei stellte sich heraus, dass Trijodthyronin in erster Linie die direkten Wirkungen von Coffein und Theophyllin potenziert. Die indirekt sympathische Wirkung wurde dagegen durch Hyperthyreose bei Coffein nur geringgradig und bei Theophyllin überhaupt nicht verstärkt.

Der Einfluss der Schilddrüsenfunktion auf die Wirkungen von Kaffee, Coffein und Theophyllin ist nicht auf Änderungen im Metabolismus oder in der Ausscheidung der Methylxanthine zurückzuführen. Es liessen sich nämlich in den Gewebskonzentrationen (Serum, Leber, Herz) von Coffein und Theophyllin (90 min nach 60 mg/kg i. p.) zwischen euthyreoten, hyperthyreoten und athyreoten Ratten keine Unterschiede feststellen, die die bei Hyperthyreose verstärkte und bei Athyreose verminderte Wirksamkeit der Methylxanthine erklären könnten. Die Schilddrüse beeinflusst offenbar auch nicht allgemein die Empfindlichkeit der Methylxanthin-Gewebsrezeptoren ; denn *in vitro* waren die chronotropen Effekte von Coffein und Theophyllin an den isolierten Vorhöfen euthyreoter, hyper- und athyreoter Ratten gleich stark. Es ist deshalb anzunehmen, dass die Schilddrüsenfunktion durch Änderungen der metabolischen Kapazität des Organismus primär die stoffwechselsteigernde Wirksamkeit der Methylxanthine beeinflusst, wodurch sich dann sekundär verstärkte bzw. abgeschwächte Kreislaufreaktionen ergeben.

Der Blutzuckerspiegel erhöhte sich nach Coffein und Theophyllin (60 mg/kg i. p.) bei euthyreoten und thyreopriven Ratten auf etwa das Doppelte, bei hyperthyreoten Tieren dagegen überhaupt nicht. Die freien Fettsäuren des Serums stiegen nach Theophyllin und Coffein bei euthyreoten Ratten um 60 bzw. 77 % an, während sie bei den hypothyreoten Tieren um 41 bzw.

(*) Erscheint ausführlich in *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. exp. Path.*

L'auteur ayant déjà publié son exposé dans la revue mentionnée ci-dessus, avec un « copy-right », seul un résumé sans illustration nous a été adressé pour l'insertion dans le recueil des communications du colloque.

22 % abnahmen. Bei den hyperthyreoten Tieren traten nach Theophyllin und Coffein keine signifikanten Änderungen der freien Fettsäuren auf. Diese Versuche zeigen, dass ein vermehrtes bzw. vermindertes Angebot energetischer Substrate nicht als Ursache der kalorigenen Wirkung der Methylxanthine angesehen werden kann.

Nach dem Genuss von 2-3 Tassen Kaffee oder einer entsprechenden Menge von Coffein sind auch beim

Menschen mehrfach Steigerungen des äusseren Stoffwechsels um 5-15 % der Ausgangswerte beschrieben worden. Es muss damit gerechnet werden, dass diese kalorogene Wirkung des Kaffees bei hyperthyreoten Patienten verstärkt auftritt und zu einer erheblichen Mehrbeanspruchung des bereits durch das Grundleiden geschädigten Herzens führt. Hyperthyreote Patienten sollten deshalb Kaffee und andere coffeinhaltige Getränke meiden.

STRUBELT (O.), STEFFEN (J.), STUTZ (U.). — **Influence de la fonction thyroïdienne sur quelques actions du café, de la caféine et de la théophylline.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 222-225.

Café, caféine et théophylline provoquent chez les rats sous narcotiques une augmentation de la consommation d'oxygène et de la fréquence cardiaque. Le café décaféiné est pratiquement inactif.

Des études sur des rats normaux, hyperthyroïdiens, ou ayant subi une thyroïdectomie permettent de supposer que, dans un stade primaire, la fonction thyroïdienne agit sur l'activité d'accroissement du métabolisme due aux méthylxanthines, et ce par des modifications de la capacité métabolique de l'organisme, ce qui provoque secondairement des réactions circulatoires amplifiées (chez les hyperthyroïdiens) ou diminuées (chez les animaux privés de thyroïde).

L'observation chez l'homme d'une augmentation du métabolisme après absorption de café contenant de la caféine entraîne à considérer que cette action calorigène est d'autant plus forte chez les hyperthyroïdiens et qu'elle entraîne une sollicitation accrue importante du cœur déjà lésé. Les hyperthyroïdiens devraient ainsi éviter le café et les autres boissons contenant de la caféine.

STRUBELT (O.), STEFFEN (J.), STUTZ (U.). — **Influence of the thyroid function on some actions of coffee, caffeine and theophylline.** Quatrième Colloque international sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 222-225.

Coffee, caffeine and theophylline provoke in rats under narcosis an increase in oxygen consumption and cardiac frequency. Decaffeinated coffee is practically inactive.

Investigations on normal, hyperthyroid rats and those which have been subjected to thyroidectomy allow to suppose that in a first stage, the thyroid function acts on metabolism increase caused by methylxanthines and this by modifications of the metabolic capacity of the organism, which secondarily provokes amplified circulatory reactions (in hyperthyroid subjects) or diminished circulatory reactions (in animals subjected to thyroidectomy).

The observation in Man of a metabolism increase after ingestion of caffeine containing coffee leads to consider that this calorogenic action is the greater in hyperthyroid subjects and that it entails an important increase in the cardiac sollicitation of an already injured heart. Subjects affected with hyperthyrosis should therefore avoid the ingestion of coffee and other caffeine containing beverages.

STRUBELT (O.), STEFFEN (J.), STUTZ (U.). — **Der Einfluss der Schilddrüsenfunktion auf einige Wirkungen von Kaffee, Coffein und Theophyllin.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 222-225.

Kaffee, Coffein und Theophyllin verursachen eine Steigerung des O₂-Verbrauches und der Herzfrequenz bei narkotisierten Ratten. Coffeinfreier Kaffee ist da fast unwirksam.

Eigene Untersuchungen bei hyperthyreoten, thyroidektomierten und euthyreoten Ratten lassen annehmen, dass die Schilddrüsenfunktion durch Änderungen der metabolischen Kapazität des Organismus primär die stoffwechselsteigernde Wirksamkeit der Methylxanthine beeinflusst, wodurch sich dann sekundär verstärkte (bei hyperthyreoten Tieren) bzw. abgeschwächte (bei thyreopriven Tieren) Kreislaufreaktionen ergeben.

Auf Grund der beim Menschen beobachteten Steigerung des äusseren Stoffwechsels nach Genuss von coffeinhaltigem Kaffee muss damit gerechnet werden, dass diese Wirkung bei hyperthyreoten Patienten verstärkt auftritt und zu einer erheblichen Mehrbeanspruchung des schon geschädigten Herzens führt. Hyperthyreote Patienten sollten deshalb Kaffee bzw. coffeinhaltige Getränke meiden.

DISCUSSION

M. MÜLLER-LIMMROTH : Ich würde gern wissen, inwieweit ist ein Einfluss über das thyreotrope Hormon des Hypophysenvorderlappens hier untersucht worden. Ich würde mich auch besonders dafür interessieren, wie haben die Schilddrüsen histologisch ausgesehen nach Coffeinzufuhr. Sind die Schilddrüsen untersucht worden und wie sahen sie aus ? Denn ich meine immer noch, dass eventuell eine Coffeinwirkung über Hypothalamus, Hypophysenstiel, Hypophyse möglich wäre.

Ich möchte daher fragen, ob das mit im Spiele ist bei der von Ihnen angenommenen Veränderung der Rezeptorenempfindlichkeit.

M. STRUBELT : Ich glaube nicht, dass die Methylxanthine in unseren Versuchen über eine Freisetzung von thyreotropem Hormon und damit indirekt über eine Freisetzung von Schilddrüsenhormonen wirken ; und zwar deshalb nicht, weil die Latenzzeit, die ja die Wirkung der Schilddrüsenhormone auszeichnet, viel zu gross ist. Wir haben diese Frage geprüft. Man kann mit Trijodthyronin, dem Hormon der Schilddrüse, das am schnellsten wirkt, innerhalb unseres Versuchszeitraumes von 2-2 1/2 bei Ratten Stunden keine Veränderung des Stoffwechsels und der Herzfrequenz erzeugen. Die Kurzzeiteffekte, die hier nachgewiesen wurden, können also sicher nicht über eine Freisetzung von Schilddrüsenhormonen zustandekommen. Wie es mit der Langzeitwirkung der Methylxanthine ist, darüber kann ich nichts sagen, da wir das nicht untersucht haben.

M. LEVENSON : I did observe that in many of the experiments your dosage was 60 mg/kg which I believe would correspond to over 4 g for a kg man. It seems to me that this is a very large dose, and I am just wondering, on the basis of that, what results may have occurred if you had used lower doses that might correspond more closely to the physiological dose of caffeine which might be 2/100, 2/10 g, not 4 g.

M. STRUBELT : Wir haben nicht nur die Dosis von 60 mg/kg Coffein bzw. Theophyllin gegeben, sondern auch eine Dosis von 6,6 mg/kg Körpergewicht verabreicht ; 6,6 mg/kg, das würde umgerechnet auf einen 60-70 kg schweren Menschen einer Dosis von etwa 400 mg entsprechen oder 3-4 Tassen Kaffee. Das ist zweifellos schon eine relativ hohe Dosis, aber eine Dosis, die auch bei Kaffeegenuss u. U. aufgenommen wird. Ich stimme Ihnen jedoch bei, dass eine Dosis von 60 mg/kg unphysiologisch ist. Wir haben sie nur benutzt, um zu sehen, ob die Methylxanthine neben der indirekt sympathischen auch eine direkte Wirkung auf unsere untersuchten Parameter haben.

Wir bekommen aber auch nach 6,6 mg/kg Coffein bzw. nach 10 ml/kg Kaffee Steigerungen des Stoffwechsels und der Herzfrequenz.

M. MÜLLER-WIELAND : Bezüglich dieser Dosis noch einmal eine Frage, Herr Strubelt. Wenn man das einmal durchrechnet, so kommt man also bei 60 mg/kg Coffein auf vergleichsweise enorme Dosen beim Menschen. Aber ich glaube, das kann man so nicht übertragen ; denn um eine Atropinwirkung bei der Ratte zu erzeugen, braucht man ja auch ungeheuer grosse Mengen. Die Frage also, wissen Sie etwas über den Abbau von Coffein, wie der « turnover » da besteht, und wie erklären Sie die Dosendiskrepanz gegenüber den Menschen ?

M. STRUBELT : Es muss grundsätzlich bei der Ratte etwa die fünffache menschliche Dosis gegeben werden, und zwar einfach deshalb, weil die Ratte pro kg Körpergewicht — so dosieren wir ja — den fünfmal so starken Energieumsatz hat. Also auch aus diesem Grunde sind die Dosen von 6 mg/kg durchaus mit denen des Menschen bei Kaffeegenuss zu vergleichen. Coffein und Theophyllin werden ausgesprochen langsam metabolisiert ; da existieren Untersuchungen von HERZ aus München, innerhalb von 2-3 Stunden nach intraperitonealer oder intravenöser Applikation konnte man keinen nennenswerten Abfall der Blutwerte feststellen. Auch wir haben nach einer Dosis von 60 mg/kg Theophyllin oder Coffein nach 90 Minuten Werte im Serum und in den Organen gefunden, die bei 70-80 mg/kg liegen. Es hat also noch kein nennenswerter Abbau stattgefunden.

M. LANG : Darf ich dazu selber eine Bemerkung machen. Erstens, die Dosis von 60 mg/kg entspricht ungefähr einem Drittel der LD 50. Bei der Ratte ist also mit anderen Worten die LD 50 sehr hoch, während die LD 50 beim Menschen wahrscheinlich pro kg Körpergewicht wesentlich höher liegt als bei der Ratte. Man kann sich also nicht auf die Stoffwechselintensität beziehen. Weiter haben wir sehr eingehende Versuche gemacht über den Stoffwechsel von Coffein. Die Halbwertszeit von Coffein beim Menschen und bei den meisten Tieren liegt in der Grössenordnung zwischen 2 und 4 Stunden ; mit anderen Worten, es ist eine Substanz, die ausserordentlich rasch abgebaut wird.

Darf ich mir noch eine weitere Bemerkung erlauben, die auf einer ganz anderen Ebene liegt. Sie haben gewissermassen das Coffein in den Status eines indirekt wirkenden Sympathiko-Mimetikums erhoben. Nun liegt doch eine beträchtliche Literatur darüber vor, dass auch nach Coffein nach sehr hohen Gaben die Ausscheidung von Katecholaminen sich in keiner Weise ändert. Kann man das eigentlich unter einen Hut bringen ?

M. STRUBELT : Ich möchte zunächst zur Frage des Abbaus sagen : als Pharmakologe bezeichne ich eine Substanz mit einer Halbwertszeit von 2-4 Stunden — so gross ist sie bei Coffein auch nach den Untersuchungen von AXELROD — als eine langsam metabolisierte Substanz. Andere Pharmaka, wie z. B. die Katecholamine, haben im allgemeinen eine wesentlich kürzere Halbwertszeit. Es existieren 4 oder 5 Untersuchungen, in denen nach Kaffee, Coffein und nach Theophyllin eine verstärkte Ausscheidung von Katecholaminen nachgewiesen wurde, so z. B. von DE SCHAEPDRYVER. Ich kann Ihnen die Literaturzitate gern zur Verfügung stellen. Es gibt 3 oder 4 Arbeiten, insbesondere von Skandinaviern, die auch bei Menschen nach Kaffeegenuss eine vermehrte Ausscheidung von Katecholaminen im Urin und auch einen Anstieg von Katecholaminen im Serum nachgewiesen haben. Negative Arbeiten sind mir nicht bekannt ; vielleicht sind das ältere Arbeiten. Die Arbeiten, die ich meine, erschienen in den letzten 4 bis 5 Jahren.

M. CZOK : Ich möchte auch noch etwas zur Frage der Coffeindosierung sagen. Es ist nicht so, dass bei sämtlichen Organfunktionen das Coffein etwa im Tierversuch schwächer wirkt als beim Menschen. Wir selbst und auch andere Untersucher haben gefunden, dass bei der zentralen Wirkung beispielsweise schon Dosen von 2-3 mg/kg Körperge-

wicht Coffein ausreichen, um bei der Ratte oder bei der Maus eine Steigerung der zentralen Erregbarkeit auszulösen. Das sind aber Dosen, die ohne weiteres mit den Dosen zu vergleichen sind, die beim Menschen gegeben werden.

Dann noch eine zweite Frage. Sie haben die Coffeinkonzentrationen in Herz und Leber bestimmt und keine Unterschiede bei euthyreoten und thyreopriven Tieren gefunden. Bezogen sich diese Werte auf das Feucht — oder Trockenge wicht dieser Organe? Ich möchte nämlich doch annehmen, dass bei den euthyreoten und thyreopriven Tieren erhebliche Unterschiede im Wassergehalt bestehen dürften, und wenn man den Coffeingehalt auf den Wassergehalt bezieht, sich dann doch Unterschiede ergeben dürften.

M. STRUBELT : Das ist eine sehr interessante Frage. Unsere Werte beziehen sich auf das Feuchtgewicht. Mir ist es aber nicht bekannt, dass Unterschiede im Trockengewicht der Gewebe bei Euthyreose und Hypothyreose bestehen. Wir werden diese Frage noch einmal untersuchen ; das ist jedenfalls ein sehr interessanter Hinweis, um eine Fehlermöglichkeit auszuschalten.

M. VERHAAR : In the first slide I think, you showed the oxygen consumption with reference to caffeine and decaffeinated coffee. I noticed an increase at the end of the curve. I think I also noticed that in the curve of heart frequency. Is this a meaningful increase, and if so, have you an explanation?

M. STRUBELT : Das erste Dia wurde an wachen Ratten gewonnen und da ist, soweit ich mich entsinnen kann, tatsächlich noch einmal ein Anstieg. Wir haben diesen Anstieg aber bei narkotisierten Tieren — bei denen also eine Beeinflussung durch die Motilität ausgeschlossen war — nicht gefunden. Also, es handelt sich dabei um einen Zufallsbefund.

M. JANS : Je pense qu'il faut féliciter l'auteur pour cet exposé et, en donnant toute leur valeur aux remarques qui ont été faites, je pense qu'il faut attirer l'attention sur le problème, qui a déjà été signalé, de l'interprétation des résultats observés sur des animaux, rapportés à l'homme.

L'homme peut absorber des quantités de café considérables, mais le système nerveux central de l'homme est particulièrement développé et je demande à l'auteur s'il n'est pas de notre avis : il y a non seulement une question de quantité, mais aussi une question d'espèce. Même chez les hommes, il y a des différences tellement considérables que le problème des doses se trouve faussé. C'est, je pense, la conclusion à laquelle l'auteur était arrivée sur le rat et celle-ci se trouve multipliée d'une façon considérable en ce qui concerne l'homme, dont le système nerveux se trouve émoussé.

Socialement se pose le problème des gens qui prennent des excitants, sous forme de café, de façon exagérée et qui absorbent ensuite des calmants pour atténuer leur excitation.

M. STRUBELT : Speziesunterschiede sind bei allen pharmakologischen Wirkungen möglich. Ich glaube aber, dass wir beim Gesamtstoffwechsel gleiche Effekte mit annähernd gleichen Dosen der Methylxanthine bei der Ratte und beim Menschen erzeugen können. Denn mit Kaffee und mit Coffein — das haben mehrere Arbeiten gezeigt — kann man auch beim Menschen eine Steigerung des Energieumsatzes erreichen, die mit unseren Effekten an Ratten vergleichbar ist ; aber es bestehen Speziesunterschiede beispielsweise bei der Herzfrequenz. Eine Tachykardie kann man beim Menschen im allgemeinen mit Kaffee oder Coffein nicht erzielen, weil der Vagotonus des Menschen stärker ist als der der Ratte und daher die positive chronotrope Wirksamkeit fast immer gegenreguliert wird. Bei der Ratte finden wir dagegen Steigerungen der Herzfrequenz, das sind also tatsächlich Speziesunterschiede. Der Gesamtumsatz dürfte aber beim Menschen und auch bei der Ratte durch Coffein in gleicher Weise erhöht werden.

VERHALTEN DER METABOLITE DES FETT- UND KOHLENHYDRATSTOFFWECHSELS NACH VERABREICHUNG VERSCHIEDENER KAFFEESORTEN

H. HAMMERL, C. KRÄNZL, G. NEBOSIS, O. PICHLER, M. STUDLAR

Aus der I. Medizinischen Abteilung des Wilhelminenspitals der Stadt Wien



M. STUDLAR

In den letzten Jahren haben eine Reihe von Autoren versucht, sowohl im Tierexperiment (5, 12) als auch in klinischen Studien (1, 14) die Frage zu klären, inwieweit die Verabreichung von Kaffee zu einer Schädigung des Gesamtorganismus, bzw. einzelner Organe, wie der Leber oder des Gefäßsystems führen kann. Als Parameter für die biochemischen Untersuchungen wurden meist die freien Fettsäuren herangezogen, da es bekanntlich nach der Applikation von Xanthinderivaten zu einer Stimulierung der Lipolyse kommt. Diesen Effekt hat am isolierten Fettgewebe mit Theophyllin erstmals HYNIE und mit Coffein RIZACK beschrieben. BELLET und Mitarbeiter konnten entsprechende Beobachtungen auch beim Menschen nach der Verabreichung von Coffein, bzw. Kaffee machen. Auf die Abhängigkeit der Konzentrationszunahme der FFS (nach der Gabe dieser

Substanzen) von der jeweils vorliegenden Leberfunktion haben ZELLER und AMMON hingewiesen. Die genannten Autoren nehmen an, dass die verstärkte Mobilisierung der FFS eine ungünstige Auswirkung bei Lebererkrankungen haben dürfte. Bei der Gabe von coffeinfreiem Kaffee sei dieser Effekt nicht zu erwarten. Hinsichtlich des Einflusses von Kaffee auf die Entwicklung von Koronargefäßkrankheiten liegen eine Reihe von widersprechenden epidemiologischen Studien vor.

So wurde aus dem Anstieg der FFS nach Kaffeegebe auf eine zu erwartende Vermehrung der Lipidfraktionen geschlossen (BELLET). Im Gegensatz dazu haben HEYDEN und RÜTTNER weder im Tierversuch, noch in klinischen Untersuchungen einen cholesterinerhöhenden Effekt von Coffein beobachtet. Die von PAUL und Mitarbeitern in einer prospektiven epidemiologischen Studie angenommene statistisch signifikante Korrelation zwischen Kaffeegenuss und Entwicklung von Koronargefäßkrankungen blieb nicht unwidersprochen, da die genannten Autoren weder die Kaffeetrinkgewohnheiten noch den Nikotingenuss berücksichtigt haben. Andere Autoren, wie BROWN, WALKER, KANNEL konnten die Angaben von PAUL in eigenen Untersuchungen nicht bestätigen.

Die angeführten, zum Teil widersprechenden Befunde veranlassten uns in klinisch-experimentellen Untersuchungen mittels biochemischer Methoden weitere Hinweise über den Zusammenhang zwischen Koffeinapplikation, bzw. Kaffeegenuss und dem Verhalten der Metabolite des Fett- und Kohlenhydratstoffwechsels zu suchen. Ausserdem schien es von Interesse nicht nur den Koffeingehalt des verabreichten Kaffee sondern auch dessen Röstverfahren zu berücksichtigen. Zur Deutung der erhobenen Befunde erschien es weiters von Bedeutung, das Verhalten der geprüften Parameter unter der Verabreichung von Reinsubstanzen, wie Coff. natr. benz. sowie Theophyllin zu untersuchen. Abschliessend soll noch kurz auf die Frage der Tachyphylaxie, sowie auf die Bedeutung des Zusatzes von Zucker zu Kaffee eingegangen werden.

Bei allen nun zu besprechenden Untersuchungen haben wir folgende Versuchsanordnung eingehalten.

Die ausgewählten Probanden erhielten im Anschluss an ein dreitägiges therapiefreies Intervall und eine 14-stündige Nahrungskarenz nach der Abnahme des Blutes für den Ausgangswert eine Schale ungezuckerten Kaffee bzw. die entsprechende Testsubstanz verabreicht. Die weiteren Blutabnahmen erfolgten nach 1, 2 und 3 Stunden. Die Flüssigkeitsmenge betrug 220 ml, das Gewichts des gemahlten Kaffee 20 g. Die Zubereitung erfolgte in einer Espresso-Maschine.

Um eine Beeinflussung der Ergebnisse von Seiten der Probanden zu vermeiden, wurden nur solche Personen zu den Untersuchungen herangezogen, welche keinen Leberparenchymschaden und keine Erkrankungen des Magen-Darm-Traktes aufwiesen. In Vorversuchen war ausserdem festgestellt worden, dass die Verabreichung von 220 ml warmer Flüssigkeit bei nüchternen Personen keine Änderung der geprüften Parameter des Fett- und Kohlenhydratstoffwechsels bedingt.

Folgende Bestimmungsmethoden fanden Anwendung :

- 1) Freie Fettsäuren (Microtitration nach Dole und Meinertz).
- 2) Freies Glycerin und Gesamtglycerin (enzymatisch mit Testkombinationen der Firma Boehringer Mannheim) daraus berechnet die :
- 3) Triglyceride.
- 4) Glucose (enzymatisch mit Boehringer Testkombinationen).
- 5) Lactat (enzymatisch mit Boehringer Testkombinationen).
- 6) Pyruvat (enzymatisch mit Boehringer Testkombinationen).
- 7) Acetacetat (enzymatisch).

Die statistische Auswertung erfolgte mittels t-Test nach Student unter Bezugnahme auf die Leerwertkurven. Die Signifikanzberechnungen wurden zuerst hinsichtlich des Verhaltens innerhalb der einzelnen Parameter nach der Verabreichung der verschiedenen Kaffeearten geprüft. In einem zweiten Rechenvorgang fand ein Vergleich der für eine Aussage wichtigen Kriterien (freies Glycerin und freie Fettsäuren) gegeneinander statt. Auf diese Weise sollte die Differenzierung zwischen den einzelnen Kaffeearten exakt charakterisiert werden.

Unter Berücksichtigung der angeführten Versuchsanordnung wurde in der ersten Untersuchungsreihe den Probanden ein koffeinfreier Kaffee, ein normal gerösteter Kaffee und ein nach dem Lendrich-Verfahren hergestellter Kaffee (Idee-Kaffee) verabreicht.

Die Auswertung der erhobenen Befunde ergab, dass die charakteristischen Veränderungen beim freien Glycerin (FG) und bei den freien Fettsäuren (FFS) auftraten. Ich darf Ihnen das Verhalten dieser beiden Parameter nach der Verabreichung der 3 Kaffeearten nun demonstrieren (Abb. 1). Beim freien Glycerin findet man, wenn die Ausgangswerte gleich 100 % gesetzt

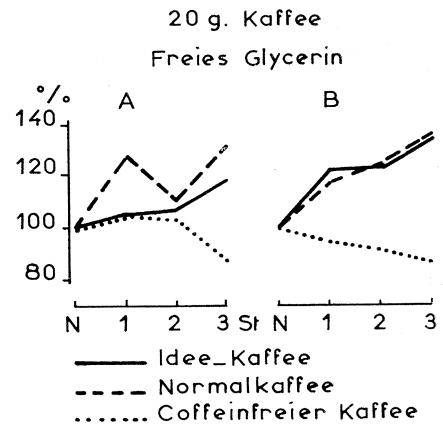


Abb. 1

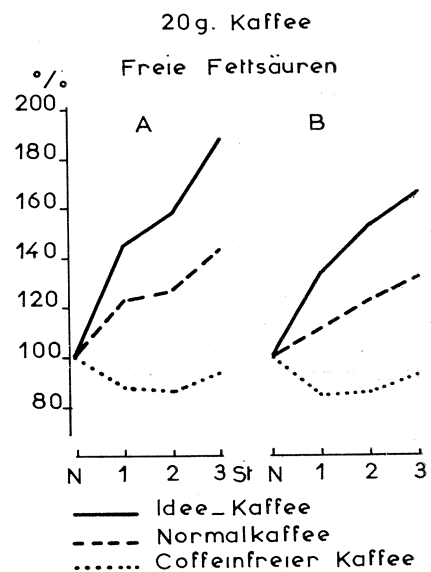


Abb. 2

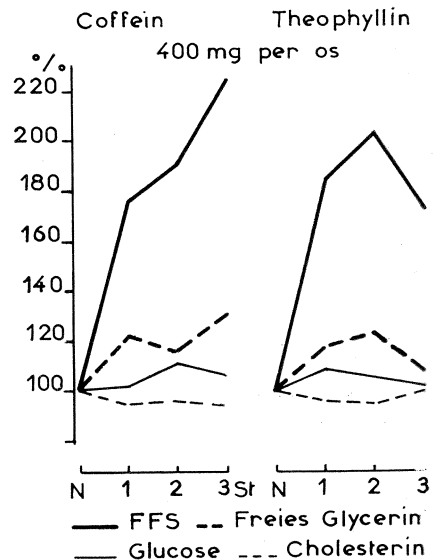


Abb. 3

werden, unter Idee-Kaffee nach 3 Stunden einen Anstieg um 19 %. Beim Normalkaffee besteht zu diesem Zeitpunkt eine Zunahme des FG um 32 %. Der koffeinfreie Kaffee bewirkt dagegen, nach einem kurzen initialen Anstieg, eine Konzentrationsabnahme des FG um durchschnittlich 12 %.

Ein ähnliches Verhalten lassen die freien Fettsäuren erkennen. Auch hier steht einem Abfall der Werte beim koffeinfreien Kaffee, ein Anstieg beim normal gerösteten, bzw. Idee-Kaffee gegenüber. Die maximale Zunahme der Konzentration beträgt bei diesen beiden Kaffeearten nach 3 Stunden 44 % bzw. 88 % gegenüber den Ausgangswerten (Abb. 2).

Die übrigen Fettfraktionen, wie Triglyceride und Gesamtcholesterin zeigten ebenso wie Glucose, Lactat und Pyruvat weder wesentliche noch differente Änderungen nach der Gabe der 3 Kaffeearten.

Um die erhaltenen Befunde dieser Untersuchungsreihe hinsichtlich ihrer biochemischen Aussage exakt verwenden zu können, haben wir bei einem weiteren Kollektiv Coffein natr. benz. bzw. Theophyllin per os als Tabletten in einer Dosierung von je 400 mg pro Proband verabreicht.

Ich darf Ihnen die Ergebnisse an Hand des nächsten Dias (Abb. 3) zeigen : Sowohl beim FG als auch bei den FFS tritt nach 400 mg Coffein per os eine Konzentrationszunahme auf, die ihr Maximum jeweils nach 3 Stunden erreicht. Der Anstieg beträgt beim FG 30 %, bei den FFS 126 % gegenüber den Ausgangswerten. Der Blutzucker stieg gering an, das Gesamtcholesterin blieb praktisch gleich. Nach der Gabe von 400 mg Theophyllin tritt das Maximum der Veränderungen schon in der 2. Stunde auf. Die durchschnittliche Zunahme beträgt beim FG 23 %, bei den FFS 104 %. Auch bei dieser Substanz kommt es bei der einmaligen Verabreichung einer relativ hohen Dosis zu einem leichten Anstieg des Serumspiegels von Glucose, während das Gesamtcholesterin nicht beeinflusst wurde.

Um die in der ersten Untersuchungsreihe erhobenen Befunde, nämlich ein unterschiedliches Verhalten des FG und der FFS nach der Verabreichung zweier verschiedenen gerösteter, aber koffeinhaltiger Kaffeearten weiter abzugrenzen. Im Gegensatz wurde in einer weiteren Untersuchungsreihe Kaffee gleicher Provenienz (Santos) verabreicht. Die Abfüllung der Bohnen, die Röstung und die Bezeichnung der verdeckten Muster mit den Nummern 1-3 war unter notarieller Aufsicht erfolgt. Die chemische Aufarbeitung der einzelnen Proben wurde im Chemischen Staatsinstitut der Freien und Hansestadt Hamburg durchgeführt.

Um auch von Seiten der Probanden Fehlerquellen möglichst auszuschliessen, wurden die drei verschiedenen Kaffeearten an 10 Personen in Abständen von je 3 Tagen verabreicht. Die übrige Versuchsanordnung entsprach der ersten Untersuchungsreihe.

Die Auswertung der erhobenen Befunde ergab folgende Ergebnisse (Abb. 1). Beim freien Glycerin kommt es nach 3 Stunden beim Idee-Kaffee und beim Normal-

kaffee zu einer Zunahme um 36 %. Der Anstieg beim Normalkaffee tritt dabei langsamer ein. Der koffeinfreie Kaffee weist nach 3 Stunden einen durchschnittlichen Abfall um 12 % auf. Die FFS zeigen beim Ideekaffee nach 3 Stunden eine Zunahme um 66 %, während beim Normalkaffee die Ausgangswerte um 32 % überschritten werden. Beim koffeinfreien Kaffee liegen wieder alle Kontrollen unter dem Ausgangswert (Abb. 2).

Die statistische Auswertung dieser Befunde ergibt folgendes Bild (Tabelle 1).

Bei Verabreichung verschieden hergestellten Kaffees gleicher Provenienz (Untersuchungsreihe B) kam es zu einem unterschiedlichen Verhalten im Anstieg der FFS zwischen dem nach dem Lendrich-Verfahren hergestellten und einem normal gerösteten Kaffee. Beide Sorten unterscheiden sich statistisch signifikant gegenüber dem koffeinfreien Kaffee, bei dem es zu einem Abfall der FFS kam.

Beim freien Glycerin war ein statistisch gesicherter Unterschied nur zwischen dem koffeinfreien Kaffee und den beiden anderen Sorten nachweisbar.

Aus den bisher dargelegten Ergebnissen lassen sich folgende Schlüsse ableiten : Die einmalige Verabreichung von 20 Gramm Kaffee bedingt charakteristische reproduzierbare Veränderungen an den Metaboliten des Fettstoffwechsels, und zwar beim FG, den FFS und den Ketokörpern. Diese Substratverschiebungen sind abhängig vom Gehalt des verabreichten Kaffees an Koffein und von der Art des Röstverfahrens. Die Unterschiede zwischen einem Normalkaffee und einem nach dem Lendrich-Verfahren gerösteten Kaffee sind bei den freien Fettsäuren statistisch gesichert. Die gefundenen Substratverschiebungen entsprechen den Verände-

TABELLE 1
Statistische Ergebnisse
Vergleich der Proben I, II, III

Freie Fettsäuren		
Probe I gegen II	Probe I gegen III	Probe II gegen III
1 ^h - Wert p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
2 ^h - Wert p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
3 ^h - Wert 0,005 > p > 0,001	p < 0,001	p < 0,001
Freies Glycerin		
Probe I gegen II	Probe I gegen III	Probe II gegen III
1 ^h - Wert nicht signifikant	p < 0,001	p < 0,001
2 ^h - Wert nicht signifikant	p < 0,001	p < 0,001
3 ^h - Wert nicht signifikant	p < 0,001	p < 0,001

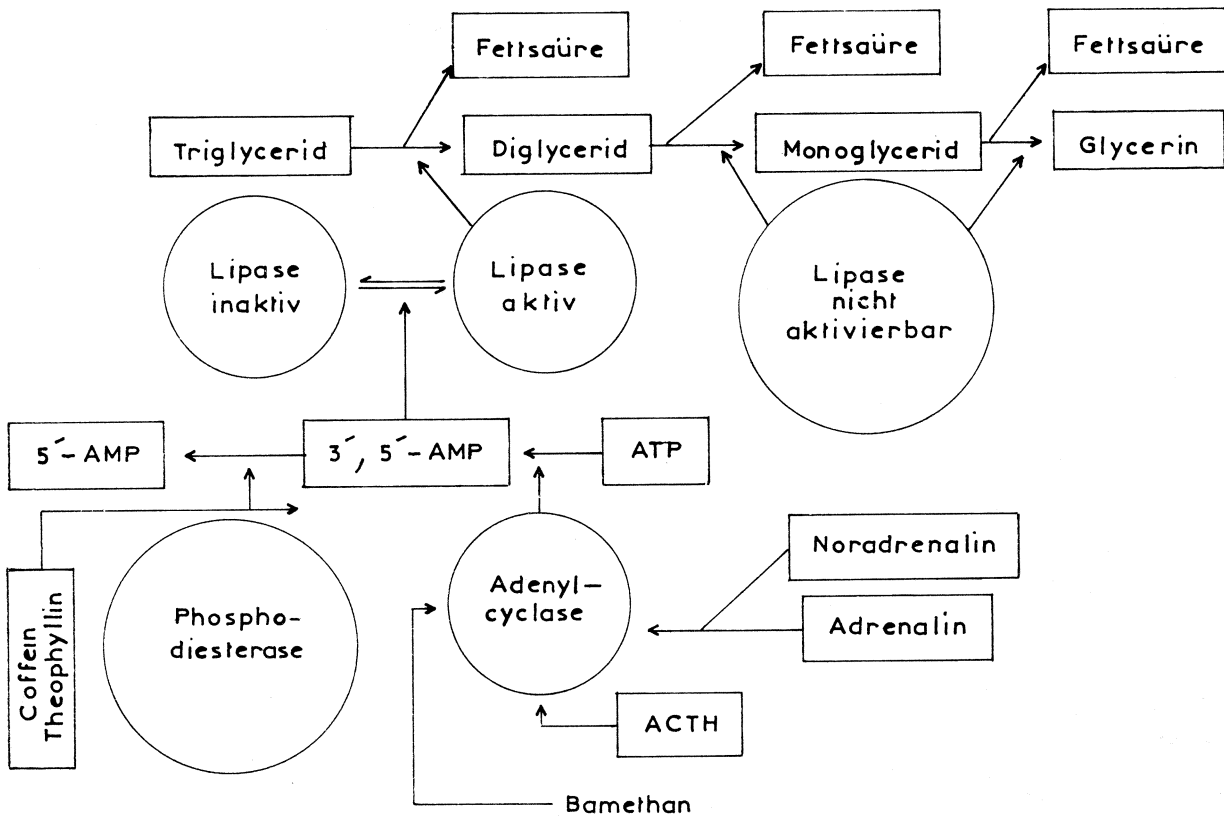


Abb. 4. — Angriffspunkt von Coffein im Adenylcyclase-System (Lipolyseschema nach Westermann)

rungen des FG und der FFS nach der oralen Verabreichung von Coff. natr. benz. bzw. Theophyllin. Die Beeinflussung der Lipolyse durch Xanthinderivate beruht bekanntlich auf einer Hemmung der Phosphodiesterase. Ich darf Ihnen an Hand eines Lipolyseschemas diesen Mechanismus kurz demonstrieren (Abb. 4).

Den Effekt von koffeinfreiem Kaffee auf das FG und die FFS, welcher in allen Untersuchungsreihen in einer Konzentrationsabnahme dieser Parameter seinen Ausdruck findet, möchten wir als eine vagale Wirkung deuten. Die Tatsache, dass der Anstieg der FFS beim normal gerösteten Kaffee geringer ist als beim gedämpften Kaffee, könnte seine Ursache im Wegfall dieser vagalen Wirkung bei dem nach dem Lendrich-Verfahren hergestellten Kaffee haben. Durch das Fehlen dieser Vaguswirkung kommt es zu einem rascheren und stärkeren Anstieg der FFS, möglicherweise auch zu einer rascheren Resorption.

Bei 6 Probanden bestimmten wir auch das Acetacetat im Venenblut nach der Gabe von 20 Gramm Kaffee (Idee-Kaffee). Es kam zu einem leichten Anstieg des Acetacetats von durchschnittlich 22 Gamma Val auf 30 Gamma Val nach einer Stunde, der langsam wieder abklang. (Nach 2 Stunden betrug die Steigerung noch 27 %, nach 3 Stunden 18 % vom Ausgangswert.) Diese Ergebnisse sind statistisch nicht gesichert, da das Kollektiv von 6 Personen noch zu gering ist (Abb. 5).

Um die Frage der Tachyphylaxie zu beleuchten erhielten 6 Personen, die keine gewohnheitsmäßigen Kaffeetrinker waren, durch eine Woche täglich 20 Gramm gedämpften Kaffee zum Frühstück. Die vor und nach dem Beobachtungszeitraum geprüften Parameter unterschieden sich nicht signifikant. Der Anstieg der FFS betrug vorher nach einer Stunde 33 %, nach einer Woche 26 % ; in der 2. Stunde lagen die Werte 52 und 48 % und nach 3 Stunden 66, bzw. 79 % über dem Ausgangswert.

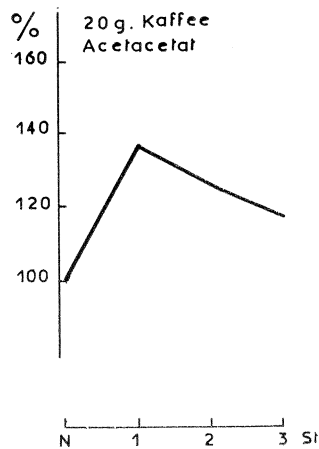


Abb. 5

In einer weiteren Studie erhielten 5 Personen 20 Gramm Idee-Kaffee mit 10 Gramm Zucker. Bei der gleichzeitigen Verabreichung von Kaffee und Zucker kam es zu einer Abschwächung der Lipolyse. Während bei diesen Probanden bei ungezuckertem Kaffee ein Anstieg der FFS auf 131 %, 150 % und 190 % in der 1, 2 und 3. Stunde auftrat, liegen die Vergleichswerte bei gezuckertem Kaffee bei 120 %, 138 % und 109 % (Abb. 6).

Auf Grund unserer Untersuchungen lassen sich die Stoffwechselwirkungen des Kaffees folgendermassen zusammenfassen :

Die Metabolite des Kohlenhydratstoffwechsels, Glucose und C₃-Säuren, wurden durch nicht excessiven Kaffeegenuss kaum beeinflusst. Hingegen kommt es zu einer mässiggradigen Steigerung der Lipolyse, fassbar durch das Ansteigen der Lipolyseprodukte FG und FFS, und zu einer leichten « physiologischen » Ketose, die in einer kurzdauernden Vermehrung des Acetacetats ihren Ausdruck findet, und als Folge des gesteigerten Anbots der FFS an die Leber anzusehen ist. Ein Einfluss auf das Gesamtcholesterin konnte im akuten Versuch, selbst nach der relativ hohen Gabe von 400 mg Koffein nicht nachgewiesen werden. Die Serumtriglyceride zeigten bei der einmaligen Gabe von Koffein, bzw. Kaffee keine (verwertbaren) Veränderungen. Eine Tachyphylaxie konnte bei einwöchiger Gabe von Kaffee nicht beobachtet werden. Die gleichzeitige Verab-

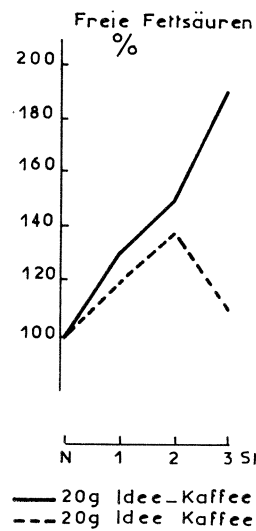


Abb. 6

reichung von Kaffee und Zucker erscheint vom metabolischen Standpunkt eher sinnvoll, da dadurch das Ausmass der Lipolyse gebremst und damit auch die Ketogenese hintangehalten wird. Koffeingehalt, Herstellungsverfahren und Zusätze modifizieren die Stoffwechselwirkungen des Kaffees. Daraus ergibt sich die Möglichkeit einer gezielteren Verwendung auch in der Diätetik.

LITERATUR

1. AMMON, H. P. T., ZELLER, W. und ESTLER, C. J. — 3. Internat. Kolloqu. über die Chemie d. Kaffees, Triest, Juni 1967.
2. BELLET, S., ASPE, J., KERSHBAUM A., and ZANUTINI, D. — *Circulation*, 29 and 30, 45, 1964.
3. BELLET, S., KERSHBAUM, A. and FINCK, E. M. — *Circulation*, 33 and 34, 53, 1966.
4. BROWN, A. — *Brit. Med. J.*, 5304, 567, 1962.
5. ESTLER, C. J. und AMMON, H. P. T. — *Experientia*, 22, 589, 1966.
6. HEYDEN, S. and RÜTTNER, J. — *Path. Microbiol.*, 29, 291, 1966.
7. HYNIE, S. et al. — *J. Pharmacol. exp. Ther.* 153, 90, 1966.
8. KANNEL, W. B. — Publ. H. Serv. Publication N° 1515, U. S. Departm. Health Education and Welfare, P. H. S. N. H. I., 1966.
9. LITTLE, J. A., SHANOFF, H. M., CSIMA, A. and YANO, R. — *Lancet*, I, 732, 1966.
10. PAUL, O., LEPPER, M. H., PHELAN, W. H., DUPERTUIS, G. W., MacMILLAN, A., McKEAN H., and PARK, H. — *Circulat.*, 28, 20, 1963.
11. RIZACK, M. A. — *J. biol. Chem.* 239, 392, 1964.
12. STIEVE, H. — *Z. f. Mikroskop. Anatom. Forschg.*, 41, 88, 1937.
13. WALKER, W. J. und GREGORATOS, G. — *Amer. J. Cardiol.*, 19, 339, 1967.
14. ZELLER, W. und AMMON, H. P. T. — *Z. Gastroenterologie*, 5, 84, 1967.

HAMMERL (H.), KRÄNZL (C.), NEBOSIS (G.), PICHLER (O.), STUDDLAR (M.). — **Influence de l'administration de cafés de divers types sur le métabolisme des matières grasses et des hydrates de carbone.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 226-231, fig., tabl., réf.

On connaît, par des études expérimentales sur animaux et des essais chimiques, l'influence de la caféine et du café sur le métabolisme des matières grasses et des hydrates de carbone.

Il a semblé intéressant d'élargir le spectre de recherche, afin d'obtenir des renseignements supplémentaires quant au mécanisme d'action du café sur les paramètres susdits, en étudiant l'influence de cafés torréfiés selon divers procédés.

Les acides gras libres, la glycérine libre, les triglycérides, corps cétoniques, glucose, lactate et pyruvate de 30 personnes ont été étudiés après administration de café normal, de café décaféiné et de café traité selon LENDRICH. Les résultats obtenus, qui sont démontrés et discutés, établissent des comportements différents des paramètres étudiés. D'autre part des essais avec ingestion simultanée de petites quantités de sucre, de même que des études concernant la tachyphylaxie ont été réalisés.

HAMMERL (H.), KRÄNZL (C.), NEBOSIS (G.), PICHLER (O.), STUDDLAR (M.). — **Influence of the administration of various types of coffee on fat and carbohydrate metabolism.** Quatrième Colloque international sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 226-231, fig., tabl., réf.

The influence which caffeine and coffee have on fat and carbohydrate metabolisms is known by experimental investigations on animals and by chemical tests.

It has seemed interesting to widen the research spectrum so as to obtain supplementary information concerning the action mechanism of coffee on the above parameters by studying the influence of coffees roasted according to various processes.

The free fatty acids, free glycerol, triglycerides, ketonic bodies, glucose, lactate and pyruvate of 30 persons have been investigated after the administration of normal coffee, decaffeinated coffee and coffee treated according to LENDRICH's method. The results obtained which are shown and discussed establish different behaviours of the studied parameters. On the other hand, tests involving the simultaneous ingestion of small quantities of sugar as well as investigations concerning tachyphylaxis have been achieved.

HAMMERL (H.), KRÄNZL (C.), NEBOSIS (G.), PICHLER (O.), STUDDLAR (M.). — **Verhalten der Metabolite des Fett- und Kohlenhydratstoffwechsels nach Verabreichung verschiedener Kaffeesorten.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 226-231, fig., tabl., réf.

Aus tierexperimentellen Untersuchungen und klinisch-experimentellen Prüfungen ist der Einfluss von Coffein und Kaffee auf den Fett- und Kohlenhydratstoffwechsel bekannt.

Um weitere Hinweise für den Wirkungsmechanismus von Kaffee auf die genannten Parameter zu erhalten, erschien es von Interesse, das Untersuchungsspektrum zu erweitern und den Einfluss von Kaffee, welcher nach verschiedenen Rösterverfahren hergestellt wurde, zu untersuchen.

Bei 30 Personen wurde das Verhalten der freien Fettsäuren, des freien Glycerins und der Triglyceride, der Ketonkörper, Glucose, Lactat und Pyruvat nach Gaben von Normkaffee, koffeinfreiem Kaffee und einem nach dem Lendrichverfahren geröstetem Kaffee untersucht. Aus den erhobenen Befunden, die im einzelnen demonstriert und diskutiert werden, ist ein unterschiedliches Verhalten der geprüften Parameter zu erkennen. Ausserdem wurden Untersuchungen bei gleichzeitiger Verabreichung kleiner Zuckermengen, sowie Prüfungen im Hinblick auf die Tachyphylaxie, durchgeführt.

LA BOISSON DE CAFÉ DANS LE TRAITEMENT DE LA PELLAGRE HUMAINE

J. ADRIAN

C. N. R. S., 92-Bellevue (France)

J. PENA et J. MORAIS DE CARVALHO

Services de Santé de l'Angola

A. MIRANDA

Institut des Investigations médicales de l'Angola

J. XABREGAS et A. CORTE DOS SANTOS

Institut du Café de l'Angola, Luanda

INTRODUCTION

Si, actuellement, le manque de protéines a pris une grande importance en nutrition des pays chauds en raison de la manière spectaculaire dont il se traduit chez les enfants au sevrage, il ne doit pas pour autant masquer d'autres déficiences nutritionnelles qui n'ont pas totalement disparu et, parmi elles, le béri-béri (carence en thiamine) et la pellagre (carence en niacine ou vitamine PP).

Cette dernière sévit dans de nombreuses régions maïdiques, le maïs et les tubercules alimentaires étant les principaux responsables de cette déficience vitaminique. Parmi les ressources alimentaires pouvant prévenir ou combattre la pellagre, on a pensé depuis longtemps au foie, à la levure sèche ou à l'arachide dont les teneurs en vitamine PP sont remarquablement élevées.

L'arachide offre certains avantages : parfaitement acceptée par le consommateur lorsque la graine est grillée, elle est produite près des lieux où l'on rencontre de la pellagre et son prix est modeste. L'introduction de la farine d'arachide grillée s'est révélée très intéressante dans le traitement des glossites observées en Angola (XABREGAS et FERREIRA, 10). Malheureusement la découverte de substances cancérogènes sur de nombreux lots d'arachides interdit actuellement de poursuivre une politique dans cette voie (ADRIAN et coll., 4).

Une autre possibilité de lutter contre la pellagre semble être la consommation de café. D'abord le grillage de la graine entraîne une synthèse intense de la niacine puisque le café grillé contient de 24 à 40 mg de vitamine PP p. 100 g, selon l'intensité du grillage (TEPLY et coll., 19) ; une étude cinétique de ce phénomène a montré que *C. arabica* et *C. robusta* réagissaient de

la même façon (ADRIAN et NAVELLIER, 5). On sait, par ailleurs que cette vitamine passe dans la boisson et que son efficacité biologique est satisfaisante (GOLD-SMITH et coll., 12 ; BRESSANI et coll., 7 ; TEPLY et coll., 19).

A partir d'enquêtes alimentaires de consommation en Amérique centrale et en tenant compte des teneurs des cafés grillés, BRESSANI et coll. (6) ont conclu qu'au Guatemala le café apportait à lui seul le quart des besoins en niacine de l'homme adulte.

Ces prévisions offrent un intérêt évident dans le domaine nutritionnel, d'autant plus que les teneurs en niacine du café torréfié sont identiques, quelle que soit la qualité commerciale du produit (ADRIAN et coll., 3). En conséquence, on pourrait encourager la consumma-



J. ADRIAN

tion locale du café dans les régions productrices, sans qu'il en résulte une perte financière considérable pour les pays.

Nous voudrions apporter une démonstration définitive en faveur de l'emploi du café comme source de niacine, en mettant en évidence la résorption des syn-

dromes de la pellagre à la suite de la consommation de quatre tasses de café par jour, pendant une période de deux mois. Cependant, auparavant nous apporterons une description de la pellagre telle que nous l'avons rencontrée en Afrique tropicale, pensant par là combler une lacune.

ORIGINE DE LA PELLAGRE ET BESOIN EN NIACINE

Aperçu des productions végétales de l'Angola

Dans les figures 1 et 2 sont rapportées d'une façon aussi précise que possible les productions alimentaires majeures.

Selon la latitude, les aliments de base seront les tubercules ou diverses céréales. Au nord, entre 5° et 10° de latitude sud, se situe la grande zone de manioc et autres tubercules. En-dessous — entre 10° et 15° —, si les tubercules se maintiennent, le maïs et le riz prédominent ; notamment sur le Plateau Central le maïs constitue la principale production alimentaire. Tout à fait au sud du pays, la base de l'alimentation est constituée par le sorgho et les mils en raison de la sécheresse qui sévit.

Dans la carte 2 figurent d'autres productions alimentaires pouvant être considérées comme les aliments « de complément » et dont le rôle est de combler, dans la mesure du possible, les lacunes et déficiences des aliments de base. Ceux qui présentent le plus d'intérêt, à la fois protidique et vitaminique, sont l'arachide —

localisée au nord et surtout dans l'est —, le sésame, que l'on rencontre dans divers points, et enfin de nombreuses races de légumineuses domestiques (haricots) dont l'Afrique intertropicale est particulièrement riche. Si ces diverses productions végétales fournissent un complément azoté appréciable, celui-ci sera encore renforcé par les productions d'origine animale et, en Angola, la principale est le poisson séché dont l'importance de la production permet à la fois une consommation locale et une exportation.

Au total, les ressources alimentaires de l'Angola — très variables selon les régions — doivent suffire, de façon globale, à la couverture des besoins de la population, mais cette situation n'exclut pas la possibilité d'enregistrer localement des déficiences alimentaires, azotées ou vitaminiques, dans les régions où l'équilibre alimentaire est difficile à réaliser.

Fig. 1. — Aliments de base dans les différentes régions de l'Angola

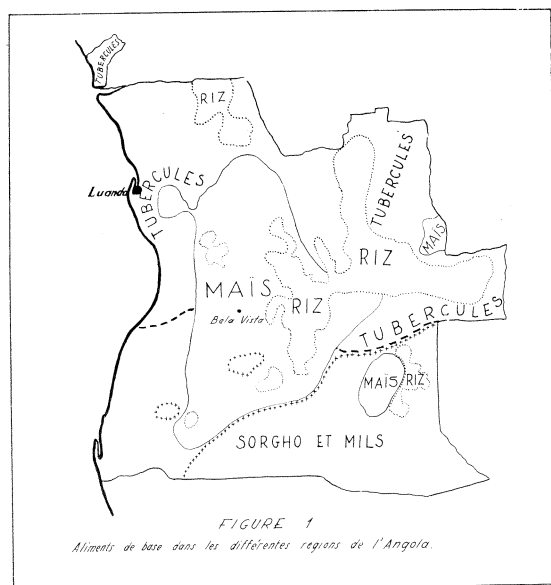
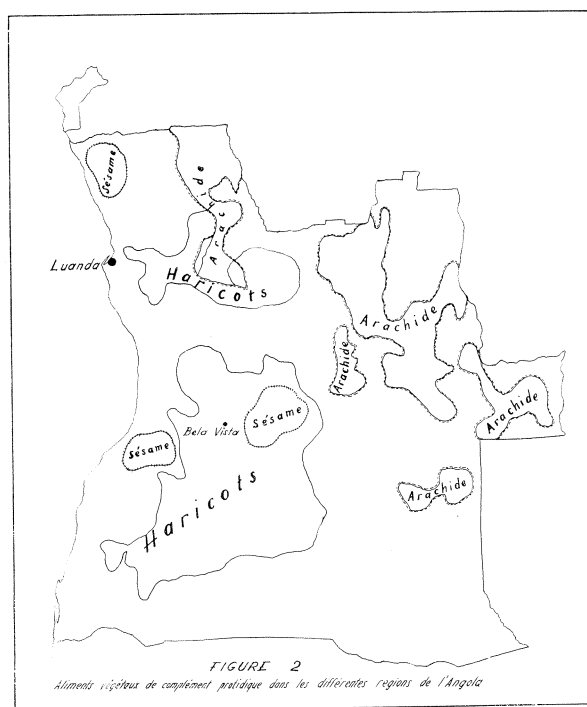


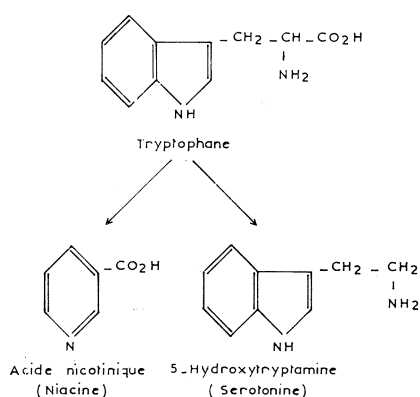
Fig. 2. — Aliments végétaux de complément protidique dans les différentes régions de l'Angola



Besoin en niacine

Le besoin en niacine ou vitamine PP (**Protecting pellagra factor**) a été chiffré depuis longtemps et nous en donnons les valeurs recommandées par le **National Research Council** (U. S. A.) dans le tableau I.

En fait, la notion de besoin en vitamine PP s'est compliquée ces dernières années en raison des interférences entre le tryptophane et la niacine. Cet aminoacide, indispensable pour la protéinogénèse, est également le précurseur d'une hormone, la sérotonine, et d'une vitamine, la niacine.



De nombreux auteurs ont vérifié expérimentalement la conversion effective du tryptophane en vitamine (KREHL et coll., 15 ; KODICEK et coll., 14 ; MORRISON et coll., 16 ; VIVIAN et coll., 20 ; etc.) et il est admis que 60 parties de tryptophane donnent naissance à une partie de niacine.

Selon certains, même, la première fonction du tryptophane serait d'assurer le besoin en niacine qui serait prioritaire par rapport à la protéinogénèse.

Ces connaissances nouvelles ont amené à réviser l'expression du besoin en vitamine PP ; aussi, récem-

TABLEAU I

**Besoin de l'homme en niacine,
en fonction de l'état physiologique**
(d'après le N. R. C.)

Enfant de :		Femme	
1 à 3 ans (12 kg)	6 mg	sédentaire	10 mg
4 à 6 — (19 kg)	8 —	moyennement active	12 —
7 à 9 — (27 kg)	10 —	très active	15 —
10 à 12 — (35 kg)	12 —	enceinte	15 —
Jeune fille de :		allaitante	15 —
13 à 15 ans (49 kg)	13 mg	Homme	
16 à 20 — (55 kg)	12 —	sédentaire	12 mg
Garçon de :		moyennement actif	15 —
13 à 15 ans (49 kg)	15 mg	très actif	18 —
16 à 20 — (55 kg)	17 —		

ment, un groupe d'experts F. A. O.-O. M. S. (9) a-t-il proposé un nouveau mode d'expression de ce besoin qui est — pour l'homme adulte — présenté sous la forme suivante :

« pour 1.000 calories la ration doit contenir 6,6 équivalents-niacine »,

un **équivalent-niacine** étant indifféremment un milligramme de niacine ou 60 mg de tryptophane qui donneront, par conversion, une activité vitaminique égale à celle de un mg de niacine.

La couverture du besoin en niacine par les aliments tropicaux de base

Le besoin en niacine sera très inégalement couvert par les aliments tropicaux de base ; le maïs et les tubercules sont particulièrement déficients à cet égard. Le tableau II — établi à partir des données de ADRIAN (2) et de la F. A. O. (8) — chiffre le potentiel théorique des divers aliments de base à l'état brut (et non sous la

TABLEAU II

Potentiel vitaminique théorique des aliments de base des régions intertropicales
(d'après ADRIAN et F. A. O.)
en équivalent-niacine pour 100 g de matière sèche

Aliment de base	Calories (p. 100)	Vitamine PP totale (+) (a)	Niacine obtenue par conversion du tryptophane (b)	Potentiel théorique (a + b)
Céréale :				
Riz	390	5,5	1,75	7,25
Sorgho	390	3,4	1,8	5,2
Mil Pennisetum	390	2,1	2,95	5,05
Maïs	400	3,0	0,75	3,75
Tubercule :				
Manioc	390	1,5	0,15	1,65
Igname	380	2,4	1,3	3,7

(+) Dont une partie plus ou moins importante peut être biologiquement inutilisable : 95 p. 100 dans le cas du maïs.

forme consommée). C'est-à-dire que ces valeurs ne tiennent pas compte des pertes consécutives au blutage des céréales, de celles dues au lavage ou à la cuisson à l'eau, etc.

Le maïs est particulièrement pellagrogène et pour une double raison : étant donné sa pauvreté en tryptophane, pour 1 000 calories il n'apporte que 125 mg de cet acide aminé, soit 2 équivalents-niacine.

Si la teneur en niacine est plus intéressante, 9 équivalents-niacine pour 1 000 calories, en réalité 95 p. 100 de cette vitamine sont sous une forme dénuée d'activité biologique, ce qui revient à dire que le maïs ne renferme que 0,5 équivalent-niacine réel, provenant de la vitamine elle-même (GHOSH et coll., 11).

Au total, pour un apport de 1 000 calories, le maïs ne fournira que 2,5 équivalents-niacine, soit le tiers de la quantité nécessaire pour couvrir le besoin.

En raison de leur faible teneur en protéines, les tubercules ne peuvent être de bons précurseurs de niacine, cependant les teneurs en vitamine sont relativement élevées et, de plus, il serait possible que la niacine soit sous une forme biologiquement active. Dans ces conditions, le manioc serait, au total et dans la meilleure des hypothèses, supérieur au maïs puisque pour 1 000 calories, il fournirait environ 4,0 équivalents-

niacine, soit approximativement les 2/3 de la dose souhaitable.

A l'opposé, certaines céréales sont d'excellentes sources de niacine ; le meilleur exemple en est apporté par le mil, *Pennisetum* : grâce à la richesse de ses protéines en tryptophane, ce grain contient 9 équivalents-niacine pour 1 000 calories, en ne tenant compte que du taux de tryptophane. En d'autres termes, même si la totalité de sa vitamine PP était sous une forme non utilisable, le tryptophane qu'il renferme suffirait à couvrir largement le besoin en vitamine PP.

Rappelons que les fractions de niacine dépourvues d'efficacité et contenues dans le maïs et d'autres productions végétales demandent à être traitées en milieu alcalin (HODICEK et coll., 14 ; HARPER et coll., 13), ou par un traitement acide fort (ADRIAN, 1) pour être converties en forme active. Une cuisson à l'eau (SCHWEIGART et coll., 18) ou un grillage (NANAVATY et GUMASHTA, 17) n'assurent qu'une conversion partielle des complexes inactifs.

En résumé, dans les régions où le maïs et les tubercules prédominent, l'apparition de la pellagre est à redouter, à moins que des aliments de complément n'apportent des quantités importantes de vitamine PP active ou de tryptophane.

DESCRIPTION DE LA PELLAGRE

Rappel historique

En Angola, dans l'ouvrage du capucin João Antonio Cavazzi de Montecuculo, intitulé « *Istorica descrizione de tre regni, Congo, Matamba e Angola* », édité en 1687, le maïs est considéré comme la graine la meilleure et la plus répandue. Elle est dénommée « *massama-mputo* » ou « *graine du Portugal* » et — sauf mauvais temps — se développe en trois mois en donnant deux récoltes par an.

C'est seulement au XVI^e siècle que la pellagre semble décrite en Europe sous le nom de « *pelerele* » ; son apparition présente un caractère endémique qui se développe 50 à 150 ans après l'implantation du maïs dans ce continent.

En Europe, les premières désignations de cette maladie montrent fréquemment une confusion avec la lèpre et la syphilis. Parmi ses diverses appellations européennes on peut citer en dehors de la « *pelerele* », la « *pelarina* », le « *mal vermeil* », la « *lèpre des Asturies* », le « *rose des Asturies* », l'« *érysipèle nerveux chronique* », le « *mal de la misère* », la « *paralysie scorbutique* », le « *scorbut des Alpes* », l'« *ictiose pellagreuse* », le « *scorbut lépreux* », l'« *érysipèle de Lombardie* », le « *mal de la rose* », le « *mal du patron* », le « *mal des Basques* », le « *mal d'Arrousee* », le « *mal des Saintes Mains* », le « *mal des Landes* », etc.

La dénomination de pellagre est due à FRAPOLLI, en 1771, qui précise son identité avec la « *pelerele* » décrite en 1578 à l'Hôpital Majeur de Milan.

Une bibliographie très vaste concerne la pellagre rencontrée en Europe et en Amérique, mais nous n'avons pas trouvé de description de cette maladie carentielle en Afrique. Cette constatation nous a incité à entreprendre la symptomatologie de la pellagre, telle que nous l'avons rencontrée à l'état endémique dans la région de Bela Vista, sur le Plateau Central de l'Angola.

Symptomatologie de la pellagre

La maladie présente un tel ensemble de symptômes affectant la peau, le tube digestif et le système nerveux, que l'on a parlé à son sujet de la maladie des trois D (dermatose, diarrhée, démence). L'autre caractéristique de la pellagre est de présenter une évolution cyclique avec une brusque recrudescence des syndromes à la période de l'année coïncidant avec une plus large exposition des malades chroniques au soleil, par exemple lors de travaux agricoles. En Angola, cette période correspond aux mois de juin, juillet et août.

La pellagre chronique est la forme qui s'estompe d'elle-même, avec plus ou moins de bonheur, après la

période d'été pour réapparaître à la même époque les années suivantes.

Les symptômes cutanés sont essentiellement un érythème, prenant naissance très rapidement, évoluant promptement et se limitant avec précision à la partie de la peau exposée au soleil. Cette dermatose offre, de plus, un aspect symétrique bilatéral frappant.

Nous l'avons observée principalement sur le nez, la région des mâchoires, les lèvres, le front, les oreilles, le cou, la partie supérieure du sternum, les avant-bras, le dessus des mains, y compris les phalanges sauf la dernière, la face externe et interne des jambes, jusqu'à la cuisse, et enfin le dessus du pied.

Là où va se développer l'érythème, le malade ressent quelques jours auparavant une sensation de chaleur et de brûlure, de picotement et de fourmillement. La peau devient rouge-chocolat et douloureuse. Une fois l'érythème apparu, la peau peut se couvrir quelques jours plus tard de vésicules renfermant un liquide séreux ; lorsque ces vésicules éclatent, elles laissent alors la place à des ulcères.

La limite de la dermatose est très nette, avec une bordure un peu plus foncée, cette bande d'hyperpigmentation recevant l'appellation d' « ourlet de MERK ». Autour du cou, l'érythème peut atteindre la nuque et le sternum, formant ainsi le « collier de CAJAL ».

Chez les sujets atteints de pellagre primaire, la peau peut être intégralement régénérée après traitement adéquat ; dans les cas chroniques, on assiste à des processus irréversibles de dénaturation : la peau devient lisse, fine et brillante, les phénomènes de transpiration disparaissent entièrement ; dans d'autres cas, on observe une hypertrophie de la couche kératinisée de la peau, qui présente un aspect fissuré et fendillé, notamment sur les pieds et les jambes.

Ces processus d'atrophie ou d'hypertrophie de la peau s'accroissent chaque année avec la chronicité de la maladie.

Les altérations de la cavité buccale concernent les lèvres, la langue et jusqu'au pharynx. Les pellagres ressentent une impression de chaleur et de brûlure

dans la bouche, ou une sensation amère ou salée, ce qui les oblige à boire abondamment.

La muqueuse des lèvres et de la bouche prend une couleur rose clair brillant, saigne avec facilité et quelquefois la douleur atteint un tel niveau que le malade ne peut manger. Les lèvres sont plissées, fendillées, sanguinolentes, couvertes de croûtes ; les commissures sont tuméfiées.

Sur la muqueuse de la langue, enflée et rose clair, à l'extrémité et sur les bords, on aperçoit souvent l'empreinte des dents (signe de SPIES). Les papilles sont hypertrophiées ou atrophiées selon les sujets. Dans certains cas, le pharynx lui-même étant atteint, la déglutition devient douloureuse.

Les troubles digestifs, bien que non spécifiques, sont importants dans le diagnostic de la pellagre. Ils sont presque toujours antérieurs aux symptômes cutanés et persistent — plus ou moins atténués — après la disparition de l'érythème. D'une façon générale ils demeurent décelables entre les crises chroniques d'érythème.

La digestion est difficile, avec une sensation de lourdeur d'estomac ; on enregistre de l'embarras gastrique et de la flatulence après les repas. Le malade se plaint de nausées et est sujet à des vomissements.

L'appétit se maintient et, parfois, devient même exagéré.

Les symptômes neuro-psychiques proviennent d'une altération du système nerveux et peuvent être de nature sensorielle, motrice, sensitive ou psychique. Au début de la pellagre, le malade présente une grande asthénie physique et psychique, une apathie, une diminution de l'activité sexuelle, des céphalées et des bourdonnements d'oreille. Il souffre d'insomnie. Petit à petit, il abandonne les activités physiques demandant un effort et devient triste, impatient, taciturne, irascible.

Il souffre de douleurs musculaires, de crampes et sa marche devient lente, hésitante et quelquefois titubante, comme dans les cas d'ivresse.

L'état mental est toujours plus ou moins atteint. Nous n'avons pas eu l'occasion de rencontrer des psychoses pellagres dans le Plateau Central de l'Angola.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Choix des pellagres

Pour l'étude de l'action du café dans le traitement de la pellagre, nous avons pu pratiquer des essais sur 28 sujets rencontrés dans la région de Bela Vista (Plateau Central de l'Angola). L'âge et le sexe des malades sont indiqués dans la figure 3. Ceux-ci sont pour la plupart des pellagres primaires (dans 21 cas sur 28) ; chez 6 individus la maladie était déjà apparue une première fois l'année précédente et dans un

seul cas le sujet était atteint depuis deux à trois ans

La symptomatologie de la pellagre a été décrite en utilisant la notation +, ++, +++ et ++++ pour préciser l'existence et l'intensité des lésions objectives ; les symptômes subjectifs étaient enregistrés seulement sous la forme « oui » ou « non ». Nous avons, de plus, procédé à la photographie des sujets les plus atteints avant et après le traitement. La répartition des divers symptômes de la pellagre chez les malades étudiés figure dans les tableaux III et IV.

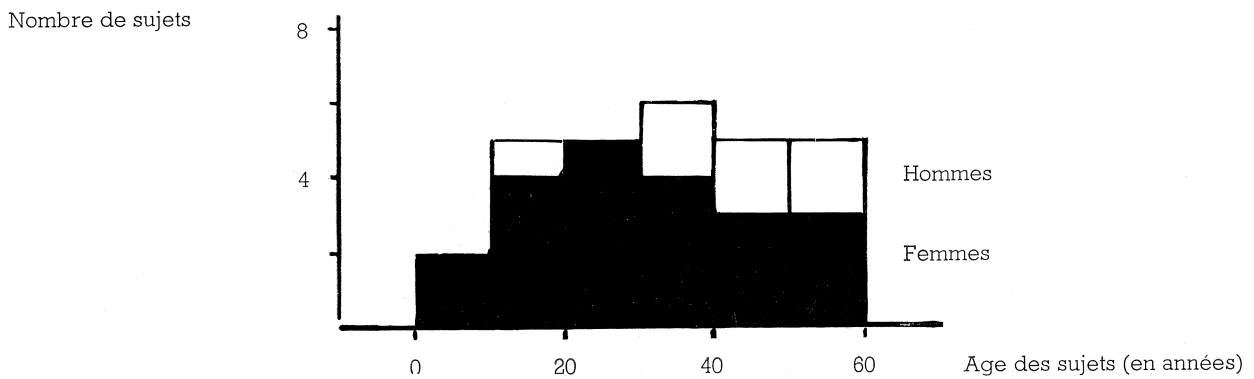


Fig. 3 — Age et sexe des pellageux

TABLEAU III

**Symptomatologie de la pellagre chez les 28 sujets recevant un traitement
consistant en 4 tasses de café par jour**

	p. 100 des malades présentant le symptôme		p. 100 de disparition à la suite de l'administration de café
	avant le traitement	après le traitement	
Symptômes cutanés			
Collier de CAJAL	61	11	82
Ourlet de MERK	25	4	86
Hyperkératose	61	25	59
Dépigmentation	75	21	71
Hyperpigmentation	97	50	48
Desquamation en pellicules ou en plaques. ...	57	11	81
Symptômes buccaux			
Cheilite	18	7	60
Stomatite angulaire	11	0	100
Lèvres fissurées et avec croûtes	21	7	68
Langue vermeille	14	4	74
Langue « géographique »	18	18	0
Glossite atrophique	54	36	32
Symptômes digestifs			
Diarrhées	36	0	100
Coliques intestinales	32	4	89
Symptômes psycho-nerveux			
Maux de tête	64	0	100
Bourdonnements d'oreille	47	0	100
Insomnies	47	0	100
Asthénie générale	82	0	100

Les érythèmes sur les avant-bras et les mains, sur les jambes et les pieds, ainsi que des zones d'hyperpigmentation se rencontrent dans plus des 5/6 des pellageux. Les 4/5 souffraient d'une asthénie générale. Néanmoins, on peut considérer que la pellagre sévissant dans le Plateau Central ne présente qu'un caractère

bénin, aucun malade rencontré ne souffrant de diarrhées abondantes, de vomissements incoercibles et de formes nerveuses et mentales, qui sont le signe d'une pellagre particulièrement grave et correspondent à la plénitude de son développement.

TABLEAU IV

**Distribution de l'érythème pellagreu chez les 28 sujets recevant un traitement
consistant en 4 tasses de café par jour**

	p. 100 des malades présentant de l'érythème		p. 100 de disparition à la suite de l'administration de café
	avant le traitement	après le traitement	
Région du front	14	4	75
Région des machoires	25	18	28
Région du cou et de la fourche du sternum .	61	11	82
Bras	75	7	90
Avant-bras	93	11	88
Mains	93	11	88
Cuisses	21	0	100
Jambes	86	32	62
Pieds	89	36	60

Enquêtes alimentaires

Des enquêtes alimentaires rapides (4 jours) ont été réalisées dans le milieu familial des pellagreu, avec le double objectif suivant :

— déterminer la cause de la carence en niacine qui peut être une monophagie d'aliments pellagrogènes ou une insuffisance générale des ressources alimentaires ;

— pouvoir reproduire aussi fidèlement que possible le régime coutumier du malade lors de son hospitalisation, de manière que pendant le traitement curatif le pellagreu continue à recevoir son alimentation habituelle et que le seul changement soit l'administration du café.

Les rations se composent essentiellement de maïs (470 g) additionné d'une petite quantité de patate douce (90 g), ces deux éléments fournissant à eux seuls plus de 82 p. 100 des calories de la ration. Le reste de la ration se compose de feuilles (manioc et autres), de graines de légumineuses, d'huile de palme et de graisse de porc, d'oignon et de jus de citron, etc. Les aliments protidiques d'origine animale ne sont représentés que par une petite quantité de poisson séché, originaire de la région de Moçamedes.

Ces rations fournissent environ 2 000 calories et un peu plus de 50 g de protéines, dont les 4/5 proviennent du maïs, c'est-à-dire qu'elles sont très déséquilibrées en tryptophane. En ce qui concerne l'apport en vitamine PP, les calculs ci-dessous correspondent au potentiel des aliments bruts avant qu'ils subissent une préparation culinaire :

— les constituants de la ration apportent environ 10,3 mg de niacine ; mais le maïs en fournit à lui seul 8,4 mg, dont 95 p. 100 seraient inefficaces biologique-

ment, selon GHOSH et coll. (11). Si on ne tient compte que de la fraction utilisable, la ration ne contient donc environ que 2 mg de niacine ;

— les protéines de la ration fournissent environ 360 mg de tryptophane, soit 6 équivalents-niacine.

Au total, la ration contient environ 8 équivalents-niacine, soit 4 équivalents au lieu des 6,6 équivalents recommandés par les experts de la F. A. O. Après les préparations culinaires, il est possible que cet apport se trouve réduit, non par destruction thermique, mais par diffusion dans les eaux de lavage et de cuisson.

Choix du café utilisé et teneur en vitamine PP et en caféine

En fonction des résultats présentés au Colloque de Trieste (ADRIAN et coll., 3), il est possible d'utiliser comme source de niacine un café de basse qualité, *C. robusta* ou *C. arabica*, à petits grains, préparé par voie sèche.

Etant donné que ce café devait être administré à des organismes affaiblis, on pouvait redouter l'action de la caféine chez de tels sujets, aussi avons-nous opté pour l'emploi d'un *C. arabica* dont la teneur en caféine est environ la moitié de celle des *C. robusta*.

Nous avons procédé à deux types d'essais avant d'opérer un choix définitif concernant le café à utiliser dans cette expérience : recherche de la torréfaction permettant la synthèse maximale de la vitamine PP et essai de dégustation des cafés en fonction de l'intensité de la torréfaction. De cette manière, nous ferons intervenir les deux facteurs conditionnant le succès de notre tentative : acceptabilité des cafés et synthèse de la niacine au cours du grillage.

Dans le tableau V figurent les résultats concernant l'évolution de la niacine dans des cafés Arabica, petits grains, 3^e qualité CC, préparés par voie sèche.

TABLEAU V

**Teneur en vitamine PP du café grillé
en fonction de l'intensité
de la torréfaction et de l'année de la récolte**

Intensité de la torréfaction exprimée en p. 100 de perte de masse brute			Teneur en vitamine PP en mg p. 100		
1965	1966	1967	1965	1966	1967
10,0	10,1	10,1	2,75	3,25	2,87
13,7	13,8	13,7	3,87	6,62	5,25
18,3	17,9	18,0	23,37	19,50	18,50
22,0	21,7	21,6	34,37	28,50	32,0
26,0	25,9	25,8	37,50	36,70	36,25
30,0	29,7	29,6	35,25	35,50	34,12

Il en résulte que :

- la synthèse de la niacine croît jusqu'à des torréfactions atteignant 26 p. 100 de perte de masse brute ;
- l'année de la récolte ne modifie pas les variations du taux vitaminique au cours de la torréfaction ;
- dans les conditions les plus favorables, le café grillé renferme environ 36 mg de niacine p. 100 g, valeur tout à fait comparable à celles déjà obtenues par différents auteurs.

Lors des essais de dégustation effectués sur des produits de faible qualité commerciale provenant des récoltes 1965-67, nous avons préparé des torréfactions entraînant des pertes de masse brute s'étalant entre 17 et 20 p. 100, en précisant qu'au Portugal le café commercial le plus courant a subi une perte de 17 p. 100 au cours de sa préparation. Les résultats obtenus, sans comparaison avec un café de référence, figurent dans le tableau VI et montrent qu'au-delà de 18 p. 100 de perte, l'acceptabilité de la boisson de café diminue nettement, l'infusion étant jugée âcre, mauvaise et non acceptable.

En conclusion, les conditions d'acceptabilité du café ne permettent pas d'utiliser les produits les plus riches en niacine — très fortement grillés — pour le traitement de la pellagre, tout au moins en Angola où le consommateur n'accepte que des produits relativement peu torréfiés.

Pour tenir compte de ces considérations, nous avons choisi dans l'expérience de traitement de la pellagre un café Arabica, 3^e qualité CC, préparé par voie sèche et constitué de petits grains, ayant subi une torréfaction entraînant une perte de masse brute de 17,6 p. 100.

Un tel produit contient 23,7 mg de niacine p. 100 g, dont la quasi-totalité « passe » dans l'infusion. Cet échantillon de café grillé contient une quantité de caféine telle que l'infusion faite à partir de 100 g de produit renferme 0,8 g de caféine, dosée par la méthode de KUM-TATT, modifiée par l'I. F. C. C.

TABLEAU VI

**Essai organoleptique du café
en fonction de l'intensité de sa torréfaction**

Perte de masse brute	Qualifications organoleptiques
17,3	Bon — faiblement acide
17,9	Satisfaisant — faiblement acide — légèrement âcre et acceptable
18,3	Satisfaisant — faiblement acide — âcre — acceptable
18,7	Satisfaisant — âcre — acceptable
19,6	Mauvais — nettement âcre — non acceptable
21,9	Mauvais — nettement âcre — non acceptable

Au total, dans l'infusion consommée journellement par les pellagres et faite à partir de 50 g de café, on trouvera environ 11 mg de niacine et 0,4 g de caféine. Plus des 2/3 des besoins vitaminiques de l'homme adulte seront ainsi fournis par la consommation du café.

Modalités pratiques de l'expérience

Comme nous l'avons déjà précisé, l'expérience porte sur 28 cas de pellagres, rassemblés à l'hôpital pour la durée du traitement. Pendant ce temps les malades continuent à recevoir leur alimentation habituelle et la seule modification est la consommation de quatre tasses de café par jour.

Les tasses de café sont faites à partir de 12,5 g de café, sur lesquels on verse de l'eau bouillante et on laisse infuser 3 mn. On filtre ensuite sur tissu. Chaque tasse représente un volume d'environ 50 ml. La boisson est distribuée quatre fois par jour, à 8 h, 10 h, 12 h et 16 h. Ainsi les pellagres consomment 200 ml de café par jour, correspondant à 50 g de produit grillé.

Le traitement se prolonge ainsi pendant un mois, est interrompu pendant une semaine pour éviter les risques d'une trop forte consommation de caféine, puis est repris pendant un nouveau mois. Aucune perturbation n'est enregistrée au cours d'un tel traitement.

On fait un inventaire des signes cliniques de la pellagre avant et après le traitement, les résultats d'ensemble étant condensés dans les tableaux III et IV.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les signes cliniques de la pellagre évoluent de façon assez variable au cours du traitement curatif (tableaux III et IV). Les troubles subjectifs, d'ordre psycho-nerveux, qui touchent une large majorité des pellagres, disparaissent en totalité. Cette constatation présente une importance majeure pour l'individu : l'aveu de l'absence de maux de tête, d'insomnie et d'asthénie générale en fin du traitement est le signe d'une sensation de « récupération » et de bien-être. La disparition — également totale — des troubles digestifs ne présente pas une importance équivalente étant donné que ces symptômes n'affectent que le tiers des sujets et que leur caractère n'est pas spécifique de la pellagre. Les symptômes cutanés sont fortement diminués par le traitement, mais sont néanmoins moins facilement résorbés que les altérations psychiques. Des plaques d'érythème subsistent sur les régions maxillaires, les jambes et les pieds, tandis que cette dermatose s'atténue beaucoup plus aisément sur les bras et les mains (tableau IV). Le symptôme cutané le plus tenace est l'hyperpigmentation qui persiste à raison de 50 p. 100 à la fin du traitement. Enfin, l'évolution des symptômes buccaux est particulière en ce sens que les anomalies linguales (glossites variées) se retrouvent presque intégralement à la fin du traitement, tandis que les lésions des lèvres se résorbent dans la même proportion que les autres troubles cutanés.

En bref, la quasi-totalité des symptômes pellagres sont résorbés après administration de quatre tasses de café par jour pendant une période de deux mois. Ce bienfait est-il imputable entièrement au café ? Nous ne le démontrons pas de façon formelle dans ce travail. Cependant, en maintenant des pellagres sur une ration maïdique — comme cela a eu lieu pendant le traitement curatif avec le café — il est difficile d'admettre que les malades aient pu recevoir dans leur ration une quantité suffisante de niacine pour pouvoir couvrir leur besoin et en plus combler la déficience clinique. Les quelques suppléments « clandestins » que les malades auraient pu glaner à l'hôpital n'auraient pu suffire à cette tâche. Aussi, concluons-nous à la part essentielle qui incombe au café dans la disparition de la pellagre, fournissant à lui seul 11 mg de niacine par jour.

Une dernière remarque s'impose. Si le café peut — et doit — jouer un rôle dans la prévention de la pellagre partout où le maïs est la base de l'alimentation, par ses propriétés stimulantes il devrait constituer un appoint précieux pour les populations des régions tropicales qui manquent fréquemment d'un influx nerveux nécessaire à une heureuse activité physique et intellectuelle. La consommation de café dans les régions productrices paraît devoir être vivement encouragée pour des raisons nutritionnelles et plus encore pour le bénéfice qu'elle apporterait sur le plan psycho-moteur.

BIBLIOGRAPHIE

1. ADRIAN J. — *Ann. nutrit. alim.* — 1969, **23**, 141.
2. ADRIAN J. — *Ann. nutrit. alim.* — 1969, **23**, 233.
3. ADRIAN J., FRANGNE R., XABREGAS J., CORTE DOS SANTOS A. — 3^e coll. intern. chimie cafés, Trieste 1967, 427.
4. ADRIAN J., JACQUOT R. — Valeur alimentaire de l'arachide et de ses dérivés, 1 vol., Paris 1968, Maisonneuve et Larose éditeurs ; ADRIAN J., LUNVEN P. — *Oléagineux*, 1969, **24**, 31, 83 et 155.
5. ADRIAN J., NAVELLIER P. — *Café cacao thé*, 1961, **5**, 263 ; ADRIAN J. — *Café cacao thé*, 1963, **7**, 359.
6. BRESSANI R., NAVARRETE D. A. — *Food res.*, 1959, **24**, 344.
7. BRESSANI R., GOMEZ-BREMES R., CONDE R. — *Arch. venezuelos nutrit.*, 1962, **12**, 93.
8. F. A. O. — U. S. Dept. Health. — Food composition table for use in Africa. Rome et Bethesda, 1968.
9. F. A. O. — Besoins en vitamines A, thiamine, riboflavine et niacine. Etude de nutrition n° 41, Rome, 1967.
10. FERREIRA C., XABREGAS J. — *Oléagineux*, 1955, **10**, 571.
11. GHOSH H. P., GUHA B. C., SARKAR P. K. — *J. nutrit.*, 1963, **79**, 451.
12. GOLDSMITH G. A., MILLER O. N., INGLAUG, W. G., KERCHEVAL K. — *Proc. soc. exp. biol. med.*, 1959, **102**, 579.
13. HARPER A. E., PUNEKAR B. S., ELVEHJEM C. A. — *J. nutrit.*, 1958, **66**, 163.
14. KODICEK E., BRAUDE R., KON S. K., MITCHELL K. G. — *Brit. J. nutrit.*, 1956, **10**, 51 ; KODICEK E., BRAUDE R., KON S. K., SHAPIRO F. — *Ind. eng. chem., Anal. ed.* — 1947, **19**, 358.
15. KREHL W. A., ELVEHJEM C. A., STRONG F. M. — *J. biol. chem.* — 1944, **156**, 13.
16. MORRISON M. A., REYNOLDS M. S., HARPER A. E. — *J. nutrit.*, 1960, **72**, 302.
17. NANAVATY K., GUMASHTA A. — *J. nutrit. diet.*, 1964, **1**, 276.
18. SCHWEIGART F., WEHMEYER A. S., FELLINGHAM S. A. — *Vitalstoffe*, 1964, n° 2.
19. TEPLY L. J., PRIER R. F. — *J. agric. food chem.* 1957, **5**, 375.
20. VIVIAN V. M., CHALOUPEK M. M., REYNOLDS M. S. — *J. nutrit.* 1958, **66**, 587.

ADRIAN (J.), PENA (J.), XABREGAS (J.), CORTE DOS SANTOS (A.) et coll. — **La boisson de café dans le traitement de la pellagre.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 232-242, fig., tabl., réf.

Après avoir schématisé les grandes zones alimentaires de l'Angola (tubercules, maïs, riz, sorgho et mils), les auteurs rappellent l'origine de la pellagre et en décrivent les symptômes que l'on rencontre dans les zones maïdiques : dermatoses, cheilites et glossites, troubles intestinaux et asthénie. Chez 28 sujets présentant de tels troubles, il a été distribué 4 tasses de café par jour, correspondant à une ingestion de 12 mg de vitamine PP.

Ce traitement a permis la disparition des signes cliniques de la pellagre dans la grande majorité des individus, confirmant ainsi l'efficacité biologique de la vitamine PP du café grillé et le rôle de cette boisson dans la prévention ou la guérison de la pellagre.

On assiste également à la disparition totale de l'asthénie (constatée dans 75 p. 100 des cas). Les conséquences d'ordre psychophysiologique de cette observation paraissent au moins aussi importantes que la résorption des dermatoses pellagreuses. A elle seule, elle justifierait le développement de la consommation de café dans les régions où sévit un marasme à l'état endémique.

ADRIAN (J.), PENA (J.), XABREGAS (J.), CORTE DOS SANTOS (A.) et al. — **Coffee consumption in the treatment of pellagra.** Quatrième Colloque international sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 232-242, fig., tabl., réf.

After giving a diagrammatic picture of the large alimentary zones of Angola (tubercles, maize, rice, sorgho and millet) the authors recall the origin of pellagra and describe the symptoms encountered in maize regions : dermatoses, chilites, glossites, intestinal troubles and asthenia. 28 subjects displaying these troubles were given four cups of coffee daily, corresponding to an intake of 12 mg of Vitamin PP (Nicotinic acid).

This treatment caused the disappearance of the clinical signs of pellagra in the majority of individuals thus confirming the biological efficacy of vitamin PP of roasted coffee and the role of this beverage in the prevention or cure of pellagra.

The total disappearance of asthenia (noted in 75 % of cases) is also observed. The psycho-physiological consequences of this observation appear to be at least as important as the resorption of pellagra dermatoses. By itself this latter justifies the development of coffee consumption in regions where a marasmus is endemic.

ADRIAN (J.), PENA (J.), XABREGAS (J.), CORTE DOS SANTOS (A.) und Mitarb. — **Der Genuss von Kaffee bei Behandlung der Pellagra.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 232-242, fig., tabl., réf.

Nach einer schematischen Darstellung der grossen Ernährungszonen Angolas (Wurzelknollen, Mais, Sorghumhirse, Hirse) weisen die Autoren auf den Ursprung der Pellagra hin und beschreiben deren Symptome die man in den Maiszonen antrifft : Hautkrankheiten, Chelitis, Glossitis, Darmstörungen und Asthenie. Acht und zwanzig Patienten welche solche Störungen aufwiesen wurden 4 Tassen Kaffee täglich verabreicht, was einer Einnahme von 12 mg Vitamin PP gleichkommt.

Bei den meisten Patienten führte diese Behandlung zum Verschwinden der klinischen Symptome der Pellagra, was die biologische Wirksamkeit der Vitamine PP des Röstkaffees und die Rolle dieses Getränkes bei der Vorbeugung oder der Heilung der Pellagra bestätigt.

Man stellt ebenfalls das totale Verschwinden der Asthenie (in 75 % der Fälle) fest. Die psycho-physiologischen Folgen dieser Beobachtung scheinen wenigstens ebenso wichtig wie die Resorption der Pellagra-Hautkrankheiten. Sie allein schon würde die Entwicklung des Kaffeeverbrauchs in den Gegenden wo ein endemischer Marasmus herrscht rechtfertigen.

DISCUSSION

M. STRUBELT : *Sie haben, soweit ich mich erinnere, durch 30 tägige Behandlung mit Kaffee diese Heilung der Pellagra erzielt. Es würde mich nun interessieren, wie es mit der Diät dieser Patienten innerhalb dieser 30 Tage gewesen ist. Haben sie nun genau das gleiche gegessen, d. h. die gleiche vitaminarme Ernährung zu sich genommen wie vorher ?*

M. ADRIAN : *Dans la mesure du possible, nous avons maintenu nos malades dans le régime coutumier. Il est évident que nos résultats présentent une faiblesse, en ce sens que nous n'avons pas de malades témoins, c'est-à-dire des pellagres que nous aurions gardés dans leur état nutritionnel normal. Etant donné le caractère saisonnier de l'érythème dans le cas de la pellagre, il aurait pu se faire que, même sans l'addition de café au régime, cet érythème se soit estompé. C'est pourquoi, j'ai insisté en disant que ce qui me paraissait le plus intéressant était la suppression des troubles digestifs et psychiques qui eux sont la manifestation indiscutable de la guérison. Il est extrêmement difficile de faire des expériences nutritionnelles en Afrique, car on ne peut être assuré que les malades ne consomment que ce qu'on leur donne à consommer. Dans les hôpitaux africains, les malades ont en plus de la cuisine de l'hôpital, celle que leur famille leur apporte.*

Nous avons fait tout notre possible pour conserver aux malades la ration qui était responsable de leur pellagre, mais nous ne pouvons pas affirmer qu'il n'y a pas eu quelques suppléments.

M. ULRICH : *Ich habe den Eindruck, dass dieses Problem der Pellagrabekämpfung nicht unbedingt nur für Afrika bzw. für die Tropen von Bedeutung ist. Wir haben nach vorliegenden Arbeiten aus den USA, aber auch aus Deutschland und dem europäischen Raum, den Eindruck, dass die europäische Bevölkerung ständig in einer Art selbstge-*

steuerter Diät zu leben pflegt. Und wir haben die Erfahrung machen können, dass besonders die Vitaminverarmung bei einer unzweckmässigen Diät — ich möchte nicht besonders auf die einzelnen Diätformen eingehen — ausserordentlich weit verbreitet ist. Man sollte vielleicht in Zukunft doch auch auf diesen Faktor sein Augenmerk richten. Liegen da vielleicht irgendwelche Erfahrungen bei Ihnen in Portugal vor ?

M. ADRIAN : Je ne peux pas répondre en ce qui concerne le Portugal et je passerai la parole à l'un de mes collègues portugais, mais je suis tout à fait d'accord avec vous pour dire que les avitaminoses peuvent exister en Europe. Deux de mes collègues travaillent sur la pellagre, l'un en Yougoslavie, l'autre en Roumanie.

Votre remarque est tout à fait judicieuse ; il y a des évolutions considérables dans les habitudes alimentaires à l'heure actuelle, même dans les pays industrialisés. Le mois dernier s'est tenu à Paris un congrès concernant les vitamines et au cours duquel on a posé la question de savoir si dans nos pays hautement industrialisés, les besoins en vitamines étaient bien couverts. Il est évident que l'on consomme des produits de plus en plus raffinés, des produits passant par une phase de technologie industrielle et cela entraîne des pertes possibles de vitamines. La question reste donc posée, même pour nos pays.

M. LANG : Darf ich mir auch eine Bemerkung dazu erlauben ? Vor einigen Jahren hat die Schweiz eine Enquete machen lassen über die Ernährungsverhältnisse der schweizerischen Bergbevölkerung. Da ist auch dieses Problem des Zusammenhanges zwischen dem Kaffeekonsum und der Pellagra diskutiert worden. Dort finden Sie auch genügend Unterlagen über das, was Sie soeben angefragt haben. Ich würde Ihnen daher empfehlen, sich diese Enquete einmal kommen zu lassen. Ich kann Ihnen die Literaturstelle sagen, ich weiss sie allerdings nicht auswendig.

M. XABREGAS : Le problème de l'avitaminose est connu au Portugal. En Angola, des recherches ont été faites sur les carences en vitamines et l'on a notamment trouvé des carences en vitamine C dans les régions côtières. Il y a des habitudes alimentaires que l'on pourrait s'efforcer de modifier. On a, par exemple, observé chez les mineurs des carences en vitamine PP. Les services de santé ont modifié le régime alimentaire par l'introduction d'arachides dans les repas (100 g/jour). Ceci évite les carences en vitamine PP, mais en raison des aflatoxines qui se trouvent dans l'arachide, on pense substituer le café à l'arachide.

M. KADEN : Ich habe eine Frage zu stellen an die portugiesischen Kollegen, die sich auf die Verhältnisse in Angola bezieht. Aus dem Vortrag von M. Adrian ist zu entnehmen, dass die Pellagra in Angola nur dort auftritt, wo kein Kaffee gepflanzt wird. Die Krankheit wird also in den Teilen Angolas, wo viel Kaffee gepflanzt wird, nicht auftreten, weil die Leute dort laufend Kaffee trinken. Dass sie das tun, weiss ich ; aber ich möchte hier noch eine besondere Frage stellen. Als ich das Gebiet bereiste und in ziemlich entlegene Gegenden kam, hatte ich dort die Beobachtung gemacht, dass man den Kaffee nicht aus gerösteten Kaffeebohnen trinkt, sondern dass man Blätter abkocht und den Kaffee sozusagen als Tee trinkt. Ich möchte nun die Herren fragen, ob sie in dieser Hinsicht auch schon derartige Beobachtungen gemacht haben und ob der Kaffee, wenn er in dieser Form getrunken wird, auch die Pellagra heilt bzw. vorbeugt.

M. ADRIAN : En ce qui concerne les feuilles, on sait par exemple que les feuilles de thé sont riches en certaines vitamines B et ceci est vrai pour à peu près toutes les feuilles. Il est certain que l'introduction d'une consommation d'infusions de feuilles dans la ration serait bénéfique, tant sur le plan des vitamines B que sur celui des minéraux. Ceci est une simple remarque générale.

M. XABREGAS : Je réside en Angola depuis 20 ans et je n'ai jamais vu absorber d'infusions de feuilles de caféier. Nous n'avons pas fait d'expériences avec les feuilles.

M. LANG : Darf ich eine Frage stellen ? Der Mechanismus der Angelegenheit ist doch der, dass der Kaffee eine grössere Menge von Trigonellin enthält und dass das Trigonellin beim Röstprozess teilweise in das Niazin übergeführt wird. Ist das so richtig ?

M. ADRIAN : Ja, Ja.

RÉPERCUSSIONS NUTRITIONNELLES DE L'INTRODUCTION D'UNE INFUSION DE CAFÉ VERT OU GRILLÉ DANS LA RATION DU RAT

J. ADRIAN, R. FRANGNE
C. N. R. S., 92-Bellevue (France)

J. XABREGAS, A. CORTE DOS SANTOS
Institut du Café de l'Angola, Luanda (Angola)

INTRODUCTION

Dans le domaine nutritionnel, le café offre au moins un avantage, celui de constituer une source remarquable de vitamine PP, dont l'efficacité biologique est indiscutable puisque nous venons d'observer que la consommation journalière de quatre tasses de café entraîne rapidement la disparition des signes cliniques de la pellagre (ADRIAN, PENA, XABREGAS et coll., 3).

On peut se demander si, corollairement, le grillage du café ne s'accompagne pas de la formation de substances biologiquement et nutritionnellement préjudiciables, telles qu'on en rencontre lors du déroulement de la réaction de Maillard. Nous rappellerons que cette

réaction, extrêmement complexe au point de vue chimique, se produit lorsqu'on chauffe des protéines en présence de sucres réducteurs ou même lors de la conservation de matières alimentaires riches en ces éléments (*). Parmi les phénomènes survenant pendant cette réaction, le plus classique est la destruction d'acides aminés qui entraîne une diminution de la valeur nutritionnelle des protéines ; mais, à côté de ce fait, on enregistre la formation de substances encore mal identifiées dont certaines offrent un caractère franchement toxique (LANG et coll., 9 ; FERRANDO et HENRY, 10 ; AMBROSE et coll., 4 ; etc.). D'autres, hydrosolubles — se formant au début de la réaction de Maillard —, présentent notamment le pouvoir de réduire l'utilisation digestive et métabolique des protéines d'une ration non chauffée, ainsi que nous l'avons mis en évidence chez le rat (ADRIAN, PETIT et coll., 1). Lorsque la réaction se poursuit et qu'une polymérisation s'amorce en vue de la formation d'un précipité insoluble de mélanoidines, on constate une disparition des substances hydrosolubles perturbant l'utilisation azotée de la ration.

Le grillage du café donne-t-il naissance à ces substances de la réaction de Maillard douées de propriétés anti-nutritionnelles ? Telle est la question que nous avons voulu étudier en introduisant dans la ration du rat en croissance une infusion de café à l'état vert ou grillé, de manière à distinguer les effets propres aux constituants du café et ceux relevant des produits de grillage.

(* Une vue d'ensemble de la réaction de Maillard et de ses répercussions physiologiques a été donnée récemment et nous y renvoyons le lecteur (PETIT et ADRIAN, 2, 12).

A. CORTE DOS SANTOS ET J. XABREGAS



PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Le café utilisé est un *C. arabica* en provenance de l'Angola, préparé par voie sèche ; il est de qualité « Seconde AA », de type 8 (148 défauts), selon les normes de la classification officielle portugaise (13). A l'état vert, il renferme 12,7 p. 100 d'eau. Il subit des grillages d'intensité variable, ce qui permet d'obtenir trois cafés grillés dont les pertes de masse brute sont de 14,0-18,8 et 24,5 p. 100. Les bilans de torréfaction, établis selon le protocole de NAVELIER et BRUNIN (11), figurent dans le tableau I.

Nous utilisons comme ration commune à tous les lots, un régime à base de farine blanche de blé et de poudre de lait écrémé. La composition exacte de ce régime est donné dans le tableau II. On lui ajoute, par kg de matière sèche, 775 ml d'eau ou d'infusion de café préparée de la façon suivante : 150 g de café, vert ou grillé, sont moulus et mis dans 500 ml d'eau bouillante. Le tout est porté 10 minutes à 100° (autoclave). Après filtration, le résidu est lavé à l'eau bouillante jusqu'à obtention d'un volume d'infusion de 775 ml. Ainsi, pour un ingéré quotidien de l'ordre de 10 g de matière sèche, les animaux consommeront environ 8 ml d'infu-

sion de café vert ou grillé qui correspondront à environ 1,5 g de café.

Les régimes ainsi humidifiés sont donnés *ad libitum* à des lots de 12 rats mâles de souche Wistar CF, pesant 48,5 g en moyenne. L'expérience se prolonge pendant 56 jours, période pendant laquelle on enregistre la quantité de nourriture consommée et l'évolution pondérale des animaux. En fin d'expérience les animaux sont sacrifiés pour le prélèvement du foie et des reins.

TABLEAU II

Composition de la ration des rats en croissance (par kg de matière sèche)

Farine blanche de blé	840 g
Poudre de lait écrémé	56 g
Huile d'arachide.....	50 ml
Mélange vitaminique complet	10 g
Mélange minéral complet	20 g
Poudre de cellulose	25 g
Liquide :	
Eau ou infusion de café vert ou grillé.....	775 ml

TABLEAU I

Bilan de torréfaction des cafés utilisés

	Perte de masse brute (p. 100)	Perte de masse nette (p. 100)	Gonflement apparent (p. 100)	Rendement brut (p. 100)	Teneur en eau après grillage (p. 100)
Grillage faible	14,0	4,3	58,7	86,0	2,9
Grillage moyen	18,8	9,5	74,6	81,2	2,6
Grillage fort	24,5	15,5	79,4	75,5	1,8

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

Le régime témoin, humidifié avec de l'eau, permet une croissance nettement plus intense et une efficacité nutritionnelle légèrement supérieure à celle des autres lots (tableau III).

Si le régime contenant l'infusion de café vert entraîne un retard de croissance de 18 p. 100 par rapport à celle du lot témoin, le fait tient essentiellement à une réduction d'appétance de 15 p. 100. L'efficacité protidique et nutritionnelle du café vert, mesurée par les coefficients d'efficacité protidique et l'indice de consommation, est presque identique à celle du lot témoin.

A première vue, les lots contenant la boisson de café

grillé fournissent des résultats du même ordre que ceux obtenus avec le café vert : on enregistre un retard de croissance de 20 à 23 p. 100 et une diminution de l'ingéré de 15 à 17 p. 100. Cependant, bien que les écarts ne soient pas significatifs, l'efficacité alimentaire tend à être plus faible en présence de café grillé : l'indice de consommation augmente de 7 à 10 p. 100 et le coefficient d'efficacité protidique diminue de la même valeur. Seul le domaine azoté tend donc à être affecté par les produits du grillage et la baisse du coefficient d'efficacité protidique justifie à elle seule les modifications de l'indice de consommation.

TABLEAU III
Croissance des animaux et efficacité nutritionnelle des rations

	Témoin	Café vert	Café grillé (14 % perte)	Café grillé (19 % perte)	Café grillé (24,5 % perte)
Croissance du rat (g/jour)	2,39 (100)	1,97 (82)	1,85 (77)	1,91 (80)	1,85 (77)
Ingéré sec (g/jour)	11,7 (100)	10,0 (85)	10,05 (85)	10,0 (85)	9,75 (83)
Equivalent de café consommé sous forme d'in- fusion (g/jour).....	0,0	1,50	1,51	1,50	1,46
Indice de consommation (*)	4,90 (100)	5,10 (104)	5,40 (110)	5,25 (107)	5,30 (108)
Coefficient d'efficacité protidique (**).....	2,17 (100)	2,08 (96)	1,96 (90)	2,03 (93)	2,01 (93)

(*) Indice de consommation = $\frac{\text{Nourriture consommée (g)}}{\text{Gain de poids du rat (g)}}$

(**) Coefficient d'efficacité protidique = $\frac{\text{Gain de poids du rat (g)}}{\text{Protéines consommées (g)}}$

En fin d'expérience, après 56 jours de régime, on enregistre une hypertrophie du foie (tableau IV) : le café vert provoque un accroissement de 9 p. 100 de cet organe, mais les produits de grillage renforcent cette action puisque l'hypertrophie atteint 20 p. 100 avec le café le plus fortement grillé. Ce café tendrait à une légère hypertrophie rénale (5 p. 100).

L'hypertrophie hépatique à la suite de la consommation de café — déjà constatée par DAUBERT (6) et attribuée alors principalement à la caféine — résulte d'une double influence : le café grillé exerce une action à la fois sur les reins et le foie et elle peut être considérée comme la marque d'une certaine nocivité des produits de la torréfaction.

TABLEAU IV
Poids et rapports biométriques
du foie et des reins

	Témoin	Café vert	Café grillé (24,5 % perte)
Poids de l'animal (g) ..	180,7	158,5	151,3
Poids du foie :			
en g	6,07	5,80	6,12
p. 100 de poids vif....	3,36	3,66	4,05
Poids des 2 reins :			
en g	1,15	1,02	1,02
p. 100 de poids vif....	0,64	0,64	0,67

DISCUSSION

La torréfaction du café peut-elle être assimilée à une réaction de Maillard et plus précisément est-elle susceptible d'engendrer des produits à caractère anti-nutritionnel ?

Nos résultats actuels paraissent plutôt négatifs, mais on doit cependant souligner que c'est dans l'échantillon le moins grillé (14 p. 100 de perte de masse brute) que la diminution de l'efficacité protidique est la plus nette et atteint 10 p. 100. Une torréfaction entraînant une perte de masse de 14 p. 100 correspond-elle au stade de la réaction de Maillard responsable des substances « anti-nutritionnelles » et les grillages plus poussés dépassent-ils cette étape ? C'est ce que nous serions tentés de supposer. Cependant, les différences enregistrées sont trop faibles pour permettre une affirmation définitive.

Par ailleurs, l'observation la plus importante ressor-

tant de ce travail est la diminution de l'ingestion alimentaire de toutes les rations contenant la boisson de café. Un tel fait — observé sur le rat — ne se reproduirait peut-être pas chez l'homme, étant donné que l'un consomme sa nourriture de façon fréquente et par petites quantités tout au long des 24 heures, tandis que l'autre ingère sa nourriture en deux ou trois repas importants pendant ce même espace de temps.

Quoi qu'il en soit, un tel fait peut avoir de multiples causes, mais deux remarques sont à faire :

— de nombreux auteurs ont constaté que les méthylxanthines, dont la caféine, avaient un pouvoir hyperglycémiant, aussi bien chez l'homme que chez les animaux (*in* FEINBERG et coll., 7). Une telle action pourrait avoir une action sur la consommation alimentaire ;

— par ailleurs, parmi les actions physiologiques des acides chlorogéniques rapportées par F. CHASSEVENT (5), il faut retenir une action retardatrice sur la digestion, mise en évidence par GINADER (8). Comme les deux tiers des acides chlorogéniques disparaissent à la suite

de la torréfaction, la fraction restante suffirait-elle à maintenir un effet identique avec le café grillé et avec le même produit à l'état vert ? Il serait, en tout cas, possible qu'une digestion plus lente soit responsable d'une consommation moindre.

CONCLUSION

Si la consommation de nourriture est moindre dans les régimes recevant du café, la responsabilité en incombe entièrement aux constituants du café et non pas à la torréfaction.

Par contre, l'hypertrophie du foie est imputable pour moitié aux composants du café et aux produits de la torréfaction.

Enfin, il semble que le grillage présente une intensité telle que, même dans les cafés peu grillés, on dépasse le stade de la réaction de Maillard pendant lequel prennent naissance des substances à caractère anti-nutritionnel, c'est-à-dire réduisant l'efficacité protidique de la ration.

BIBLIOGRAPHIE

- ADRIAN J., PETIT L., GODON B. — *C.R. Acad. Sci.*, 1962, **255**, 391 ; ADRIAN J., FRANGNE J., PETIT L., GODON B., BARBIER J. — *Ann. nutrit. alim.*, 1966, **20**, 257.
- ADRIAN J., PETIT L. — *Medic. contemporanea*, 1967, **85**, 165.
- ADRIAN J., PENA J., XABREGAS J., MIRANDA A., CARVALHO J., CORTE DOS SANTOS A. — 4^e Coll. intern. chimie cafés, Amsterdam, 1969, 232.
- AMBROSE A. M., ROBBINS D. J., De EDS F. — *Proc. soc. exp. biol. med.*, 1961, **106**, 656.
- CHASSEVENT F. — *Ann. nutrit. alim.*, 1969, **23**, 1.
- DAUBERT B. F. — 3^e Coll. intern. chimie cafés, Trieste 1967, 387.
- FEINBERG L. J., SANBERG H., De CASTRO O., BELLET S. — *Metabolism*, 1968, 916.
- GINADER G. — *Lebensm. Unters. Forschung.*, 1937, **73**, 109.
- LANG K., SCHÄFFNER E. — *Z. Ernährungswissenschaft*, 1964, **4**, 235.
- FERRANDO R., HENRY N. — *C. R. Acad. Sci.*, 1963, **257**, 1161 ; FERRANDO R., HENRY N., PARODI A. — *C. R. Acad. Sci.*, 1964, **259**, 1237 ; FERRANDO R. — *Bull. Acad. nat. med.*, 1964, **148**, 570.
- NAVILLIER P., BRUNIN R. — 1^{er} Coll. intern. chimie cafés, in *Café Cacao Thé*, 1963, **7**, 317.
- PETIT L., ADRIAN J. — *Cahier nutrit. diet.*, 1967, **2**, 4, 31.
- Regulamento para a classificação dos cafés portugueses. Portaria, n^o 17.335, Lisboa 1959.

ADRIAN (J.), FRANGNE (R.), XABREGAS (J.), CORTE DOS SANTOS (A.). — **Répercussions nutritionnelles de l'introduction d'une infusion de café vert ou grillé dans la ration du rat.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 243-247, tabl., réf.

Nous avons utilisé une ration de base complète et équilibrée contenant 87,5 p. 100 de farine blanche de blé, 5,6 p. 100 de poudre de lait écrémé, etc.

Cette ration étant allouée pendant 57 jours, à des lots de 12 rats (d'un poids de 50 g environ) sous forme de pâte humide comportant 775 g d'eau

ADRIAN (J.), FRANGNE (R.), XABREGAS (J.), CORTE DOS SANTOS (A.). — **Nutritional repercussions following the inclusion of an infusion of coffee, either green or roasted, to the diet of the rat.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 243-247, tabl., réf.

We have utilised a complete and balanced basic diet containing 87.5 % of white wheat flour, 5.6 % of powdered skimmed milk, etc...

This diet was distributed for 57 days to batches of 12 rats (of about 50 g in weight) in the form of a moist paste containing 775 g of water or coffee

ADRIAN (J.), FRANGNE (R.), XABREGAS (J.), CORTE DOS SANTOS (A.). — **Ernährungsphysiologische-Rückwirkungen beim Einführen eines Roh- oder Röstkaffee-Aufgusses in die Ration der Ratte.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 243-247, tabl., réf.

Es wurde eine komplette und ausgeglichene 87,5 Prozent weisses Weizenmehl, 5,6 Prozent Magermilchpulver, usw. enthaltende Grundration verwendet.

Diese Ration wurde während 57 Tagen Losen von je 12 Ratten (im Gewicht von etwa 50 g) in Form einer nassen Paste verabreicht, welche 775 g. Wasser

ou de boisson de café provenant de 150 g de grain vert ou grillé plus ou moins (de 13,9 à 24,5 p. 100 de perte de masse).

Les quantités ingérées par les animaux, leur gain de poids, le poids du foie ou des reins ne sont que légèrement affectés par la consommation du café.

Le café, même vert, est responsable d'une consommation un peu inférieure. Le foie est légèrement hypertrophié dans le lot recevant le café fortement grillé.

Le grillage du café ne semble pas provoquer les manifestations nutritionnelles enregistrées avec les produits de la réaction de Maillard.

beverage made with 150 g of either green or more or less roasted beans (13.9 to 24.5 % loss of weight).

The quantities ingested by the animals, their weight gain, the weight of the liver or kidneys are only slightly affected by coffee consumption.

Coffee, even when green, is responsible for a slightly diminished consumption. The liver is slightly enlarged in the batch receiving highly roasted coffee.

The roasting of the coffee does not seem to provoke the nutritional manifestations noted with the products of Maillard's reaction.

oder Kaffee-Aufguss aus 150 g. Rohbohnen bzw. mehr oder weniger geröstetem Kaffee (13,9 bis 24,5 % Gewichtsverlust) enthielt.

Die von den Tieren eingenommenen Mengen, ihre Gewichtszunahme, das Gewicht der Leber bzw. der Nieren werden nur leicht durch den Kaffeeverbrauch beeinflusst.

Der Kaffee, sogar Rohkaffee, kann für einen etwas geringeren Verbrauch verantwortlich gemacht werden. Bei dem den stark gerösteten Kaffee enthaltenden Los weist die Leber eine leichte Hypertrophie auf.

Das Rösten des Kaffees scheint nicht die bei ben Produkten der Maillard-Reaktion ausgelösten Ernährungsercheinungen hervorzurufen.

DISCUSSION

M. MÜLLER-LIMMROTH : Sie diskutierten in Ihrem Referat, dass die Verminderung der Nahrungsaufnahme auf Stoffwechselveränderungen in der Peripherie zurückzuführen sei. Könnte es nicht sein, dass diese Einschränkung der Nahrungszufuhr darauf zurückzuführen ist, dass Methylxanthine, d. h., also auch das Coffein, den Effekt haben, die bioelektrischen Entladungen des Hungerzentrums zu unterdrücken und die bioelektrischen Entladungen des Sättigungszentrums zu erhöhen. Das würde bedeuten, dass also praktisch eine Drosselung des Appetits — des Fressverhaltens bei der Ratte — gegeben ist und dass daher die Einschränkung der Nahrungszufuhr zustandekommt.

M. ADRIAN : Votre hypothèse est très intéressante et je pense qu'elle est vraie, mais ceci sort un peu de mon domaine : je suis nutritionniste et la pharmacologie est à la limite. Les comportements alimentaires sont passionnants, mais complexes.

M. LANG : Darf ich vielleicht auch noch eine kurze Bemerkung hierzu machen ?

Wer viel solche Fütterungsversuche macht, der weiss, dass Ratten sehr leicht die Nahrung verweigern, wenn sie etwas ungewöhnliches bekommen. Man kann also ohne weitere Analysen keine genaueren Angaben machen, ob es sich hierbei um einen pharmakologischen oder um einen organoleptischen Effekt handelt. Es müsste also erst weiter überprüft werden. Ohne Experimente kann man also die hier angeschnittene Frage nicht entscheiden.

M. STRUBELT :

Die Ratte frisst nicht ständig. Da existieren Untersuchungen, in denen das Fressverhalten der Ratte und der Maus untersucht worden ist und es ist so, dass die Ratte etwa in 6 Einzelportionen ihre Nahrung pro Tag aufnimmt und dass die Hauptnahrungsaufnahme in der Nacht erfolgt ; tags frisst sie also kaum. Wer tagsüber Rattenkäfige besichtigt, wird feststellen, dass die Ratte kaum am Tage frisst. Ich glaube also, das ist nicht ganz richtig, wenn Sie sagen, dass die Ratte Tag und Nacht ununterbrochen frisst.

Eine andere Frage ist die, wieviel Kaffee haben Sie in Ihren Versuchen gegeben ? Wir haben Versuche über ein halbes Jahr mit Kaffee als Getränk an Ratten durchgeführt. Wir haben also den Kaffee anstelle von Trinkwasser verfüttert, und zwar hatten wir eine Kaffeekonzentration von 4 g/100 ml Getränk, d. h., also ein relativ schwacher Kaffee. Wir haben in diesen Versuchen keine Änderung der Nahrungsaufnahme und auch keine Änderung im Körpergewicht feststellen können. Deshalb würde ich gern wissen, wie hoch Ihre Dosis war, die Sie gegeben haben. Wahrscheinlich war sie höher, denn Sie haben sie ja auch nicht im Getränk angeboten, sondern im Futter gegeben.

M. ADRIAN : Voilà exactement la manière dont nous avons procédé : nous avons pris 150 g de café moulu (vert ou grillé) que nous avons mis en suspension dans de l'eau bouillante. Nous l'avons laissé 10 mn à 100° C au bain-marie, puis nous avons filtré et rincé le résidu de manière à aboutir à un volume final de 800 ml. Ces 800 ml correspondaient à la partie soluble des 150 g de café. Il y avait une dilution au cinquième, c'est-à-dire que 5 ml contenaient l'équivalent de 1 g. Cette solution était alors mélangée à la ration. Ce sont des conditions un peu particulières sur lesquelles je n'ai pas insisté : les animaux boivent le café tout en mangeant.

Je précise bien que le but de mon expérience était de vérifier si les produits de la torréfaction pouvaient perturber l'utilisation alimentaire. En fait, ils ne perturbent pas de façon sensible l'utilisation digestive et je suppose que dans la torréfaction du café, même lorsqu'elle est faible (perte de masse brute de 14 p. 100), la réaction de Maillard a atteint un stade qui dépasse celui où se forment les produits anti-nutritionnels.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES EFFETS PHARMACOLOGIQUES DE L'ACIDE CHLOROGÉNIQUE

G. VALETTE, H. MORIN

Laboratoire de Pharmacodynamie de la Faculté de Pharmacie, Paris

Les effets pharmacologiques de l'acide chlorogénique, notamment ses effets stimulants centraux, ont fait l'objet d'assez nombreux travaux (CZOK et LANG, 1961 et 1963). D'après ces derniers auteurs, l'acide chlorogénique produit chez le rat un effet stimulant pour des doses comprises entre 3,75 et 15 mg par kg. L'intensité de cet effet, démontré par l'abaissement du seuil d'électro-choc appliqué selon la méthode de GERLICH (1949) représente environ le sixième de l'action observée avec la caféine. On a constaté, d'autre part, une stimulation par action conjointe d'acide chlorogénique et de caféine,

plus faible toutefois que celle que manifeste la caféine seule, utilisée à la même dose (TRIENDL, 1939 ; CZOK et LANG, 1961).

Dans le présent travail, nous avons cherché, d'une part, à vérifier l'action stimulante propre de l'acide chlorogénique utilisé seul ou en présence de caféine et, d'autre part, à voir dans quelle mesure une augmentation des effets des catécholamines par inhibition de la catéchol-O-méthyl-transférase pouvait être invoquée comme mécanisme possible de l'effet stimulant du composé en question.

VÉRIFICATION DE L'ACTION STIMULANTE PROPRE DE L'ACIDE CHLOROGÉNIQUE

Actographie

L'actographie a été effectuée :

- soit en cage de DEWS,
- soit en « roue d'écureuil ».

Dans ces essais, des doses, en progression géométrique de raison 2, ont été éprouvées pour mettre en évidence l'action stimulante sur l'activité motrice :

- de l'acide chlorogénique seul,
- de la caféine seule,
- d'associations des deux composés en faisant toujours intervenir trois parties d'acide chlorogénique pour une partie de caféine, ce qui correspond à peu près aux proportions relatives des deux composés dans les infusions de café.

EN CAGES DE DEWS

L'activité motrice est exprimée par le nombre d'occultations que les déplacements de l'animal produisent sur deux faisceaux lumineux se croisant dans une enceinte rectangulaire.

Les souris sont placées par deux dans les boîtes,

90 minutes après l'administration per os de la substance en essai et l'activité est enregistrée pendant 15 mn (les chiffres des compteurs sont relevés toutes les 5 mn).

Les groupes suivants ont été constitués :

- témoins : ingestion d'eau,
- acide chlorogénique : 22,5, 45 et 90 mg/kg,
- associations :
 - 1) acide chlorogénique 45 mg/kg + caféine 15 mg/kg,
 - 2) acide chlorogénique 90 mg/kg + caféine 30 mg/kg.

Les essais ont porté sur des groupes de 10 animaux (tableau I).

Discussion

— L'effet stimulant de l'acide chlorogénique n'est sensible ici qu'à partir de 45 mg/kg, sans augmentation pour une dose double.

— L'effet stimulant de la caféine est net : on sait (BOISSIER et SIMON, 1965) que l'augmentation de l'activité motrice n'est manifeste qu'aux faibles doses, jusqu'à 32 mg/kg, les doses plus élevées se montrant sans effet, puis dépressives.

TABLEAU I

**Actions comparées de l'acide chlorogénique,
de la caféine et de l'association de ces deux composés
sur l'activité de la souris**

(Chiffres lus au compteur (N) pour différentes doses)

Témoins	Acide chlorogénique		Caféine		Acide chlorogénique + caféine
	Doses	N	Doses	N	
118	22,5	93	7,5	154	—
	45	135	15	168	150
	90	131	30	186	195

— L'association acide chlorogénique-caféine n'a pas permis de mettre en évidence un effet cumulatif.

— Dans tous les cas, l'augmentation d'activité se maintient sans modification pendant toute la durée de l'enregistrement (15 mn) et cet effet est assez durable, puisque l'observation des animaux a commencé 90 mn après l'administration du produit.

EN « ROUE D'ÉCUREUIL »

Ce dispositif, destiné à recevoir un seul animal, est muni d'un compteur enregistrant chaque demi-tour.

Deux séries d'expériences ont été effectuées, différant par la durée de l'enregistrement, qui a toujours débuté 30 mn après l'administration per os de la substance en essai :

— enregistrement pendant 30 mn, avec lecture des compteurs après 5, 10, 15 et 30 mn.

— enregistrement poursuivi pendant 6 h avec lecture des compteurs toutes les 30 mn,

ENREGISTREMENT DE COURTE DURÉE (30 minutes)

Des essais préliminaires ont permis de constater la grande sensibilité de ce dispositif, qui provoque d'ailleurs une stimulation de l'activité.

Les essais définitifs ont porté sur des groupes de 10 animaux, traités comme suit :

- témoins : administration d'eau,
- acide chlorogénique : 5,625 et 11,25 mg/kg,
- caféine : 1,875 3,75 7,5 15 et 30 mg/kg,
- associations :

- 1) acide chlorogénique 5,625 mg/kg + caféine 1,875 mg/kg,
- 2) acide chlorogénique 11,25 mg/kg + caféine 3,75 mg/kg.

Résultats

Le graphique 1 (p. 250) rend compte de l'activité (valeurs moyennes) en fonction du temps, pour les doses les plus représentatives.

Discussion

— Comparativement aux témoins, l'acide chlorogénique ne produit pas de modifications de l'activité motrice à la dose de 5,625 mg/kg, mais agit très nettement à la dose de 11,25 mg/kg.

— La caféine, aux doses de 1,875, 3,75 et 7,5 mg/kg, augmente nettement l'activité. Les doses supérieures (15 et 30 mg/kg) produisent déjà un effet un peu inférieur à celui que l'on observe à 7,5 mg/kg.

— Les animaux ayant reçu l'association « acide chlorogénique, 5,625 mg/kg et caféine, 1,875 mg/kg » ne manifestent pas d'activité supérieure à celle des témoins.

En revanche, l'association « acide chlorogénique 11,25 mg/kg et caféine, 3,75 mg/kg » s'est montrée plus active que celle des deux constituants utilisés isolément, mais n'excédant pas celle d'une dose deux fois plus forte de caféine. En d'autres termes, il n'y a pas d'effet cumulatif.

ENREGISTREMENT POURSUIVI PENDANT 6 HEURES

L'essai précédent n'ayant pas montré de différences dans les vitesses d'apparition de l'hyperactivité des animaux sous l'effet de l'acide chlorogénique, ni de la caféine, ni de l'association des deux composés, nous avons pensé qu'un enregistrement poursuivi pendant plusieurs heures permettrait de noter quelques variations dans la prolongation de l'effet initial.

Comme précédemment, l'enregistrement de l'activité des animaux débutait 30 mn après l'ingestion, mais il a été maintenu pendant 6 h, les chiffres des compteurs étant relevés toutes les 30 mn.

Les résultats obtenus dans les essais de courte durée ont amené à retenir seulement les doses qui s'étaient montrées nettement actives.

Des groupes de 13 à 15 animaux ont été ainsi éprouvés :

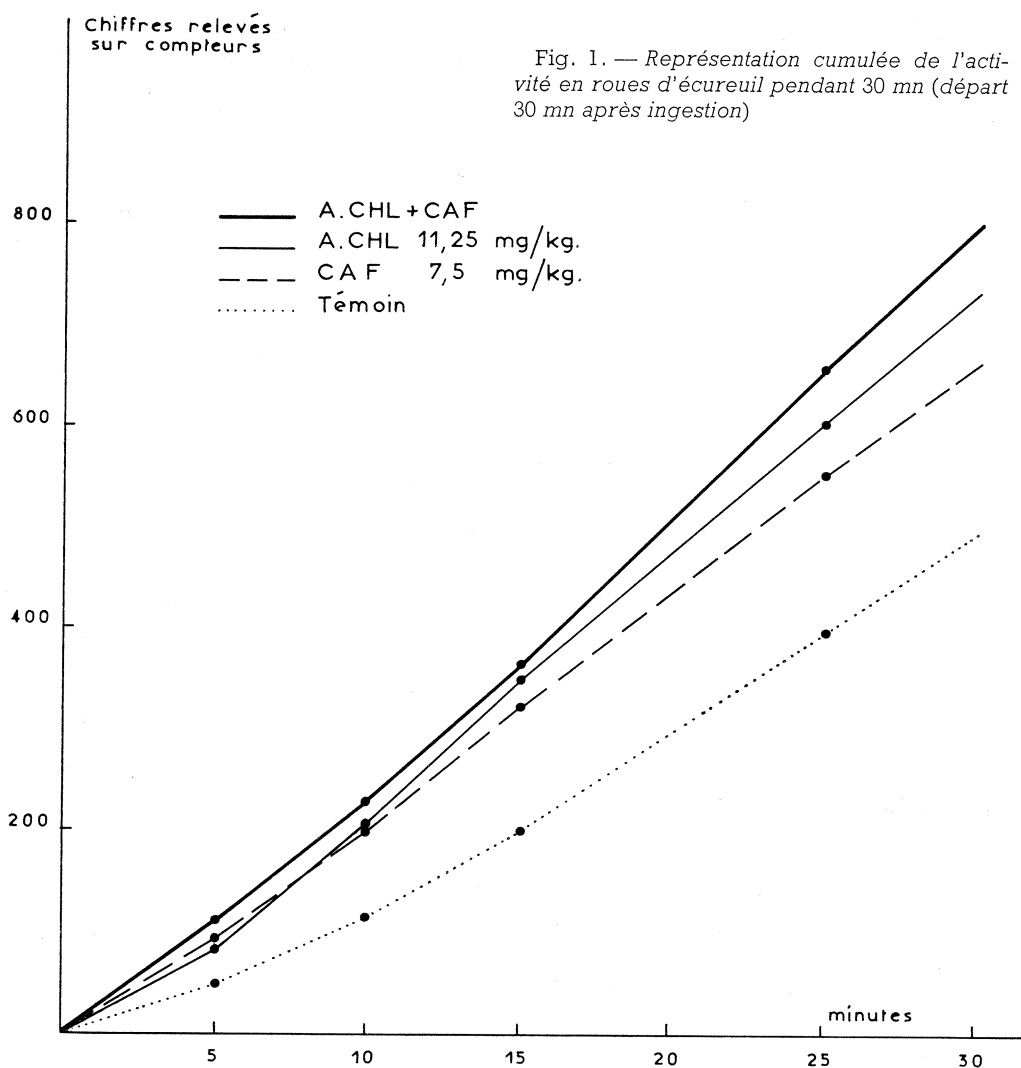
- témoins : administration d'eau,
- caféine : 3,75 mg/kg,
- acide chlorogénique : 11,25 mg/kg,
- acide chlorogénique : 11,25 mg/kg + caféine 3,75 mg/kg.

Résultats

Les chiffres (valeurs moyennes du groupe), témoignant de l'activité cumulée, sont portés sur le graphique 2 (p. 251).

Pour les témoins, la pente initiale de la courbe d'activité se maintient avec un léger fléchissement, surtout sensible après 4 h.

Les trois groupes traités présentent une activité beaucoup plus importante que celle des témoins, suivant une pente qui ne s'infléchit pas sensiblement après 3 h 1/2 et 4 h.



L'action stimulante de l'acide chlorogénique est manifeste. Pour une dose trois fois plus élevée, il est vrai, elle est comparable à celle qui est obtenue avec la caféine, quant à son début et quant à sa persistance.

Cependant, l'association des deux doses apparemment équipotentes n'amène aucune augmentation, mais plutôt une légère tendance à la diminution de l'effet persistant.

Comme dans les expériences précédentes, il n'est pas possible de constater un effet additif, *a fortiori*, il n'y a aucune synergie ni potentialisation.

Action sur le seuil de l'électro-choc

L'abaissement du seuil de l'électro-choc avait été utilisé comme critère d'une action excitante centrale par CZOK (1961) dans une étude comparée des effets de l'acide chlorogénique, de la caféine et aussi des matières grasses de café torréfié.

Cette méthode a été appliquée à la souris chez laquelle l'électro-choc est déclenché par l'application, au moyen d'électrodes temporales, d'un courant de voltage variable pour un temps de passage constant de 1/4 de seconde.

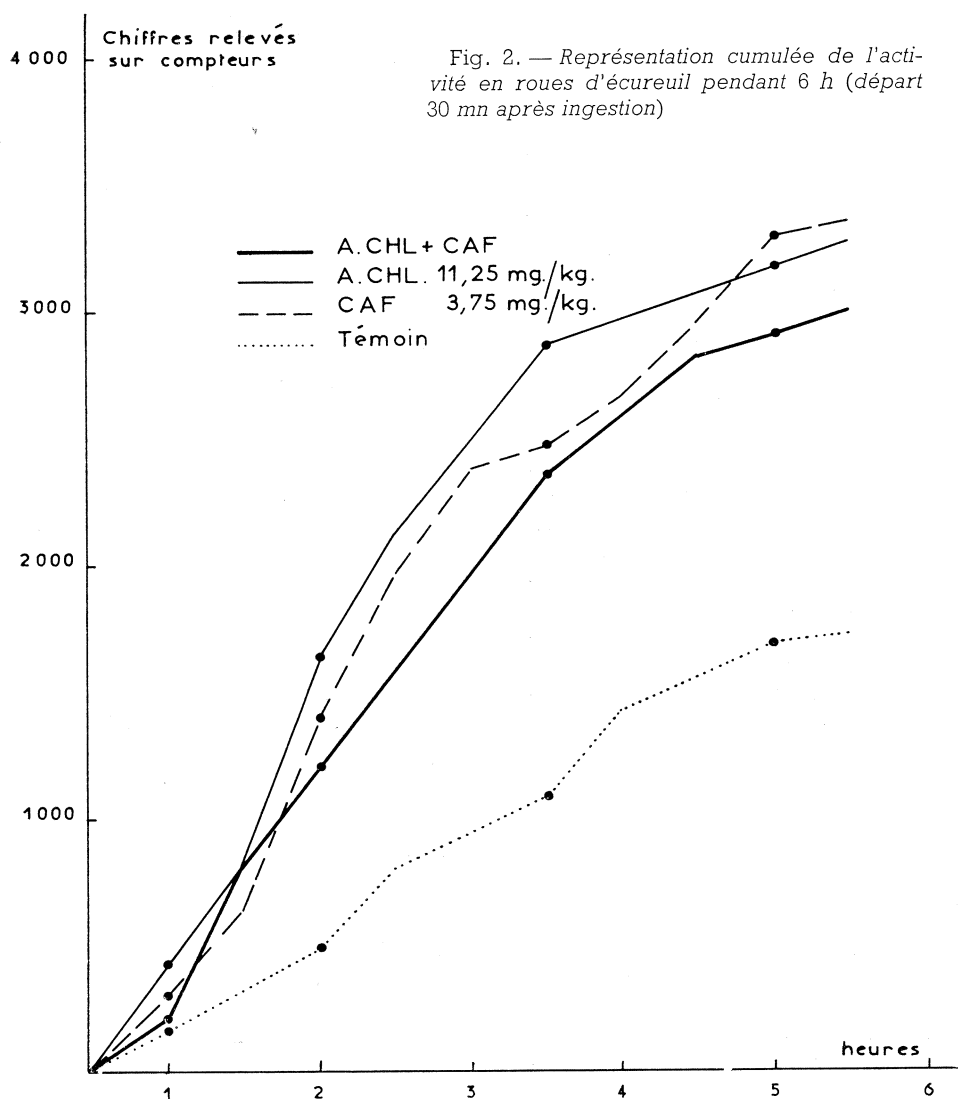
Des déterminations sur animaux-témoins ont montré qu'avec un courant de 15 volts, on n'observe pas de phase tonique, tandis qu'avec un courant de 20 volts, la phase tonique apparaît chez 60 % des animaux.

On pouvait donc espérer, en opérant au voltage subliminaire de 15 volts, observer une augmentation du pourcentage d'animaux présentant des crises convulsives, sous l'effet de l'acide chlorogénique, de la caféine et de l'association de ces deux produits.

Les résultats sont groupés dans le tableau II.

Discussion

— Ces essais n'ont fourni aucun résultat concluant en raison, soit du manque de précision de la méthode elle-même, soit des différences de sensibilité de la Souris par rapport au Rat.



— Notons cependant que des essais effectués avec l'acide caféique (seul) aux doses de 22,5 et 45 mg/kg ont fourni des pourcentages respectifs de crises convulsives de 50 et 40.

— De toutes façons, les résultats obtenus par CZOK l'avaient amené à conclure que la caféine exerçait un

effet indéniable sur l'abaissement du seuil d'électrochoc. L'acide chlorogénique se montrait environ six fois moins actif ; l'association des deux ne permettait pas de mettre en évidence une action cumulative, les résultats obtenus étant toujours inférieurs à l'effet escompté.

TABLEAU II

Pourcentages d'animaux présentant une crise tonique sous l'effet d'un choc électrique (15 volts) (groupes de 10 animaux)

Témoins	Caféine	Acide chlorogénique	Acide chlorogénique + caféine
0 %	Doses 7,5 mg/kg → 20 % 15 " → 10 %	Doses 22,5 mg/kg → 0 % 45 " → 0 %	→ 0 % → 10 %

RECHERCHE D'UN MÉCANISME D'ACTION

En conséquence de l'hypothèse formulée initialement d'une action inhibitrice possible de l'acide chlorogénique sur l'un des enzymes responsables de l'inactivation des catécholamines, nous avons cherché à mettre en évidence une augmentation des effets tensionnels de l'adrénaline et de la noradrénaline, au cours d'essais effectués sur le Rat et sur le Chat.

Essais sur le Rat

Chez l'animal anesthésié, nous avons constaté que l'acide chlorogénique provoque habituellement, aux doses de 10, 20 et 30 mg/kg, une hypotension immédiate et brève. Une augmentation ou une prolongation des effets hypertenseurs de l'adrénaline et de la noradrénaline a pu être observée, mais de façon inconstante, et surtout après la première injection d'acide chlorogénique (10-20 mg/kg), la répétition ou l'augmentation de la dose initiale n'amenant pas de nouvelle modification.

Essais sur le Chat

Enregistrement de la pression carotidienne et des contractions de la membrane nictitante (en réponse à la stimulation du sympathique cervical ou à l'injection d'adrénaline et de noradrénaline).

Deux essais ont été effectués.

On a pu constater, comme chez le Rat, 10 à 20 mn après l'injection de 20 mg/kg d'acide chlorogénique, une légère augmentation des effets tensionnels de l'adrénaline et de la noradrénaline, mais sans augmentation sensible de la réponse contracturante de la membrane nictitante. De même, quant aux réponses à la stimulation du sympathique.

Comme chez le Rat, la répétition ou l'augmentation d'une dose, qui a provoqué quelque effet apparent, n'amène pas de nouvelles modifications.

Ces résultats ne permettent pas de conclure : la faible ampleur des variations observées peut être attribuée à des fluctuations normales autant qu'à un effet réel. Sans éliminer complètement celui-ci, il serait peut-être nécessaire de recourir à une technique plus précise.

CONCLUSIONS

1° L'acide chlorogénique exerce indéniablement une action stimulante centrale propre, qui peut être mise en évidence dans certaines conditions.

Cette action est toujours très inférieure à celle de la caféine et paraît s'exercer par des mécanismes différents.

En tout cas, l'association expérimentale acide chlorogénique-caféine ne réalise pas une potentialisation, ni même une simple addition des effets stimulants, ainsi

que TRIENDL (1939) et CZOK et LANG (1961) l'avaient déjà observé.

2° Sans pouvoir éliminer complètement l'hypothèse avancée au départ d'une inhibition par l'acide chlorogénique de l'inactivation enzymatique des catécholamines (adrénaline et noradrénaline), il ne nous est pas possible de tirer de conclusion nette des essais effectués sur le Rat et sur le Chat.

BIBLIOGRAPHIE

1. CHASSEVENT F. — *Ann. Nutr. Alim.*, 1969, 23, 1.
2. CZOK G. — *Untersuch. über die Wirkung von Kaffee*. D. Steinkopf-Darmstadt, 1966.
3. CZOK G. et LANG K. — *Arzn. Forsch.*, 1961, 11, 448.
4. GERLICH N. — *Arch. exp. Path. Pharm.*, 1949, 207, 160.
5. TRIENDL E. — *Arch. exp. Path. Pharm.*, 1939, 192, 53.

VALETTE (G.), MORIN (H.). — **Contribution à l'étude des effets pharmacologiques de l'acide chlorogénique.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 248-254, fig., tabl., réf.

Dans ce travail, les auteurs étudient les effets neurostimulants de l'acide chlorogénique sur l'animal (souris et rat) par actographie et par action sur le seuil d'électrochoc.

Confirmant les résultats des précédentes expériences de CZOK et LANG (1961), les auteurs montrent que l'acide chlorogénique exerce une action stimulante propre, mais toujours très inférieure à celle de la caféine.

Les effets de l'association acide chlorogénique-caféine ne permettent pas de conclure à une potentialisation des deux actions, ni même une simple addition des effets stimulants.

En ce qui concerne la recherche d'un mécanisme d'action de l'acide chlorogénique par inhibition d'une enzyme inactivatrice des catécholamines (COMT), aucune conclusion nette n'a pu être apportée, à la suite d'une étude sur les effets hypertenseurs de l'adrénaline et de la noradrénaline chez le rat, et l'étude de la contraction de la membrane nictitante, par ces mêmes médiateurs, chez le chat.

VALETTE (G.), MORIN (H.). — **A contribution to the study of the pharmacological effects of chlorogenic acid.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 248-254, fig., tabl., réf.

In this investigation the authors study the neurostimulant effects of chlorogenic acid on the animal (mouse and rat) by actography and by action on the electric shock threshold.

Confirming the results of the previous experiments of CZOK and LANG (1961) the authors show that chlorogenic acid exerts a stimulant action proper, but always very much lower than that of caffeine.

The effects of the chlorogenic acid-caffeine association do not allow to conclude to a potentialisation of the two actions, nor even to a simple addition of the stimulating effects.

Concerning the detection of an action mechanism of chlorogenic acid by inhibition of an inactivating enzyme of catecholamines (COMT), no definite conclusion has been supplied following an investigation on the hypertensive effects of adrenalin and noradrenalin in the rat, and the study of the contraction of the nictitating membrane by these same mediators, in the cat.

VALETTE (G.), MORIN (H.). — **Beitrag zur Untersuchung der pharmakologischen Wirkungen der Chlorogensäure.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969. A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 248-254, fig., tabl., réf.

Die Autoren untersuchen in ihrer Mitteilung die nervenstimulierende Wirkung der Chlorogensäure auf Tiere (Mäuse und Ratten) mittels der Actographie und der Einwirkung auf die Schwelle des Elektroschoks.

Die Ergebnisse der vorhergehenden Experimente von CZOK und LANG (1961) bestätigend zeigen die Autoren, dass die Chlorogensäure eine eigene stimulierende Wirkung ausübt, die jedoch stets viel geringer ist als die des Coffeins.

Die Wirkung der Verbindung Chlorogensäure-Coffein gestattet nicht auf eine Potentialisierung der beiden Einwirkungen noch auf eine einfache Addition der stimulierenden Wirkungen zu schliessen.

Was die Forderung nach einem Einwirkungsmechanismus der Chlorogensäure durch Inhibitorierung eines inaktivierenden Enzyms der Catecholamine (COMT) anbelangt, konnte man nach einer Untersuchung über die blutdruckerhöhende Wirkung des Adrenalins und des Noradrenalins bei der Ratte und der Untersuchung über die Kontraktion der Nickenhaut durch die selben Mittel bei der Katze nicht zu einer eindeutigen Schlussfolgerung gelangen.

QUALITÄTSBESTIMMUNG VON KAFFEE UND KAFFEE-ERZEUGNISSEN MITTELS VERBRAUCHERUMFRAGEN

U. HAEVECKER

Deutscher Normenausschuss, DNA, Berlin

Das Gebiet der sensorischen Beurteilung von Lebensmitteln durch Verbraucher ist sehr umfangreich und differenziert. Zur Erzielung der verschiedensten Prüfaussagen sind zahlreiche Prüf- und Befragungstechniken entwickelt worden. In der Literatur finden sich häufig

Arbeiten zu diesem Themenkreis [Bibliographie z. B. KIERMEIER u. HAEVECKER (1)]. Auf dem Kaffeesektor sind von uns kürzlich zwei Teilaspekte genauer behandelt worden, über die hier berichtet wird.

UNTERSCHIEDSANSPRACHE

Häufig ist es interessant, kleinere Unterschiede zwischen zwei ähnlichen Produkten durch Verbrauchergruppen bewerten zu lassen. Von den verschiedenen denkbaren Prüfzwecken seien zwei wichtige Beispiele genannt :

1) Ein Hersteller möchte wissen, ob eine kleinere technologische Änderung oder Verbesserung der Rezeptur von den Verbrauchern überhaupt bemerkt und gewürdigt werden kann,

2) Zwei Handelsmarken verschiedener Etikettierung stehen im Verdacht, von gleichen Zulieferanten zu stammen.

Zur Beantwortung dieser Fragen steht in der Sequentialrechnung ein sehr bequemes Hilfsmittel zur Verfügung. Wie alle statistischen Prüfverfahren kann sie natürlich keine « ja-nein »-Antwort geben, sondern nur mit verschiedenen Verlässlichkeiten das Ergebnis wahrscheinlich machen.

Ein weiterer Vorteil ist, dass Sequentialanalysen auch graphisch bequem verfolgt werden können. Ein solches Schema zeigt Abb. 1. Die verschiedenen Bereiche sind durch Geraden begrenzt, deren Koordinaten errechnet sind, die für verschiedene statistische Verlässlichkeiten daher anders laufen. Dazu muss auf die Literatur verwiesen werden (2). Die hier gezeigte Graphik bezieht sich auf folgende Kenngrößen :

Fehler erster Art	$\alpha = 0,025$
Fehler zweiter Art	$\beta = 0,050$
Proben « unterschied »	$y = 50 \%$

Eingezeichnet sind zwei Prüfgänge aus einer Befragung, in der verschiedene Handelsmarken von Kaffee-

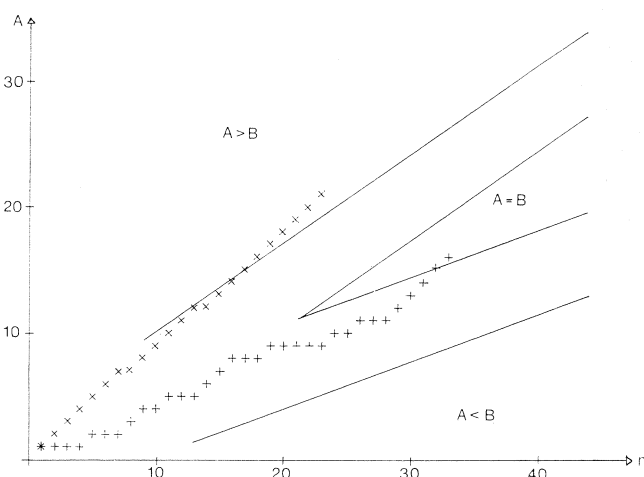


Abb. 1. — Graphisches Schema zur Sequentialanalyse, mit Beispiel einer Unterschiedsprüfung

Extraktpulvern darauf überprüft werden sollten, ob sie möglicherweise von einem Hersteller stammten. Gleichzeitig wurde, falls eine Unterscheidung der beiden Proben angesprochen wurde, nach der bevorzugten Probe gefragt. Es handelt sich hier also um eine paarweise Unterschiedsprüfung und Bevorzugungsangabe bei angesprochenem Unterschied (sog. « two-sided paired comparison »).

Den Prüfpersonen wurden jeweils zwei Tassen A und B vorgesetzt, und nach dem Kosten hatten sie sich wie folgt zu entscheiden :

- o ich halte die beiden Proben für gleich
- o ich halte die beiden Proben für verschieden
 - Falls verschieden : o mir schmeckt A besser
 - o mir schmeckt B besser
 - o mir egal

Bei jedem Urteil wird um einen Schritt in der Graphik nach rechts gerückt, und zwar in der ungeordneten Reihenfolge, in der die Urteile nacheinander eingehen. Werden die Proben als gleich angesehen, wird bei jeder zweiten Ansprache dieser Art ausserdem ein Schritt nach oben gemacht. Bei Bevorzugung von A wird ausser dem Rechtsschritt jedesmal nach oben gegangen, bei Bevorzugung von B nur nach rechts weitergeschritten. Die Fälle « Unterschied erkannt, aber Beliebtheit egal » werden abwechselnd A und B zugeteilt.

So schreitet die Urteilslinie fort in der Zone der Unbestimmtheit (« Weiterkosten »), bis sie eine der Grenzlinien schneidet und in einen der drei bestimmten Bereiche eintritt :

oben die Zone « A ist beliebter als B »
 in der Mitte spitz « A ist gleich B »
 unten die Zone « B ist beliebter als A »

Damit ist die Prüfung beendet.

Eine gewisse minimale Anzahl von Urteilen ist immer notwendig ; die Grenzlinien dürfen nicht bis zur Nulllinie weitergezogen werden, da sie erst ab einer bestimmten Urteilsanzahl signifikant werden. Rechenverfahren finden sich bei AMERINE u. Mitarb. angegeben (3).

Der Vorteil dieser Methode der Sequentialanalyse liegt darin, dass der Fortgang der Prüfung laufend verfolgt werden kann. Sie kann abgebrochen werden, sobald das gewünschte Ergebnis feststeht. Manchmal können allerdings zur Erzielung höherer statistischer Verlässlichkeiten die nötigen Urteilsanzahlen recht hoch werden, ehe sie in eine Zone der Bestimmtheit hineinmünden. Die Tabellen in der Literatur (2) sind bis über hundert Urteile hinaus berechnet.

BEWERTENDE ANSPRACHEN

Um von beschreibenden Verbraucherurteilen zu zahlenmässigen Werten zu kommen, mit denen sich anschliessend bei der Auswertung normale Rechenoperationen mit Platzziffern, Durchschnitten, etc. vornehmen lassen, wurden in den USA seit etwa 1950 « starre » Wortskalen eingeführt, in denen der Befragte nicht mehr die freie Wortwahl zur Abgabe seines Urteils hatte, sondern sich unter vorgegebenen Begriffen entscheiden musste. Jedem Begriff wurde seitens des Auswerters ein numerischer Wert zugeordnet. Die Arbeiten von PERYAM, PILGRIM, JONES (4) aus den Jahren um 1955 waren richtungsweisend, indem sie durch Sonderbefragungen die inneren Wertvorstellungen von Verbrauchern zu bestimmten beschreibenden Attributen zahlenmässig erfassten und ihre statistische Absicherung vornahmen. Danach wird auch heute noch, fast unverändert, Verbraucherbeliebtheit mit einer 9-Stufen-Skala erfasst, die von + 4 über 0 bis - 4 läuft :

- + 4 like extremely
- + 3 like very much
- + 2 like moderately
- + 1 like slightly
- 0 neither like nor dislike
- 1 dislike slightly
- 2 dislike moderately
- 3 dislike very much
- 4 dislike extremely

Ihre Anwendung auch in Deutschland in wörtlicher Übersetzung wurde von WAGNER (5) empfohlen. Bei grösseren Umfragen zur Ermittlung des Verbraucherurteils über führende Röstkaffees des deutschen Mark-

tes zeigte sich jedoch abgesehen von dem generell beobachteten Phänomen, die beiden Extremwerte fast nie anzusprechen, eine neue gravierende Schwierigkeit : Die erhaltenen Kurven wiesen keine normale Gauss-Verteilung auf, sondern waren durchweg zweigipflig. Die beiden Gipfel lagen in den Mitten des Plus- und Minus-Bereichs. Der Grad der Beliebtheit des Kaffees konnte nur aus der relativen Höhe der beiden Peaks zueinander abgeschätzt werden. Eine korrekte statistische Behandlung war nicht mehr möglich. Offensichtlich lag beim Publikum nicht nur eine Scheu vor den Endpunkten, sondern auch vor dem mittleren Wendepunkt vor.

Die 9-Stufen-Skala in dieser Form musste also aufgegeben werden. Für den deutschen Sprachraum wurde ausserdem eine Neueichung der Begriffe vorgenommen, weil die wörtlichen Übersetzungen aus dem Englischen (Beispiel : -2 « missfällt einigermaßen ») im Deutschen falsche Assoziationen geweckt hatten. Aus 50 Begriffen schälten sich nach statistischer Absicherung folgende als besonders gut brauchbar und als am wenigsten zweideutig heraus :

- 1 sehr gut
- 2 gut
- 3 zufriedenstellend
- 4 weniger zufriedenstellend
- 5 nicht zufriedenstellend

Dass die Skala in ihrer Spreizung nur noch 5 Stufen umfasste, war im Sinne feinerer Abstufungen bedauerlich, erhöhte aber ihre Handlichkeit bei ungeschulten Verbrauchern. Besonders bei schnellen Spontanurteilen

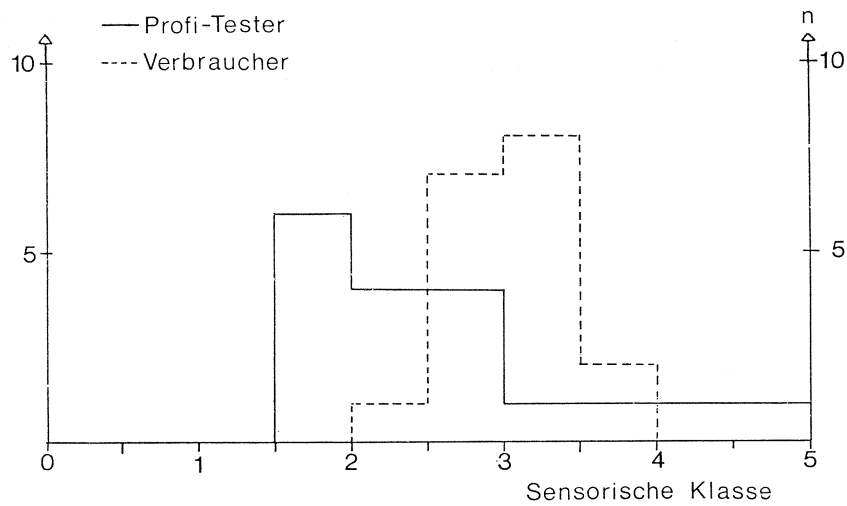


Abb. 2. — Sensorische Einstufung des deutschen Röstkaffee-Marktes durch Profi-Tester und Verbraucher, insgesamt

auf Messen, etc. (im Gegensatz zu den meist in einer geschlossenen Population wie Armeekantinen durchgeführten amerikanischen Befragungen) war sie sehr prägnant.

Abb. 2 zeigt die Einstufung von 18 führenden deutschen Röstkaffees einmal im differenzierteren Urteil von Experten aus der Kaffeetaster-Branche sowie die übliche mehr gedrängte Bewertung durch Verbraucher. In Abb. 3 sind diese Bewertungen getrennt dargestellt und die Preisklassen der Kaffees als zusätzlicher Parameter eingefügt. Die Experten stuften so ein, dass die durch den höheren Preis erzielbare Qualitätsverbesserung deutlich ist: die teureren Kaffees finden sich in der Spitzengruppe. Lediglich ein teurerer Kaffee liegt im Bereich schlechter Qualität, es handelte sich dabei um einen nach dem LENDRICH-Verfahren gedämpften Kaffee, der allgemein abgelehnt wurde. Die Einstufung durch die Verbraucher zeigt, dass dabei die preislich höher liegenden Kaffees sich im Mittelfeld der Beliebtheit wiederfinden und einige billigere Kaffees durchaus für gleich gut gehalten werden.

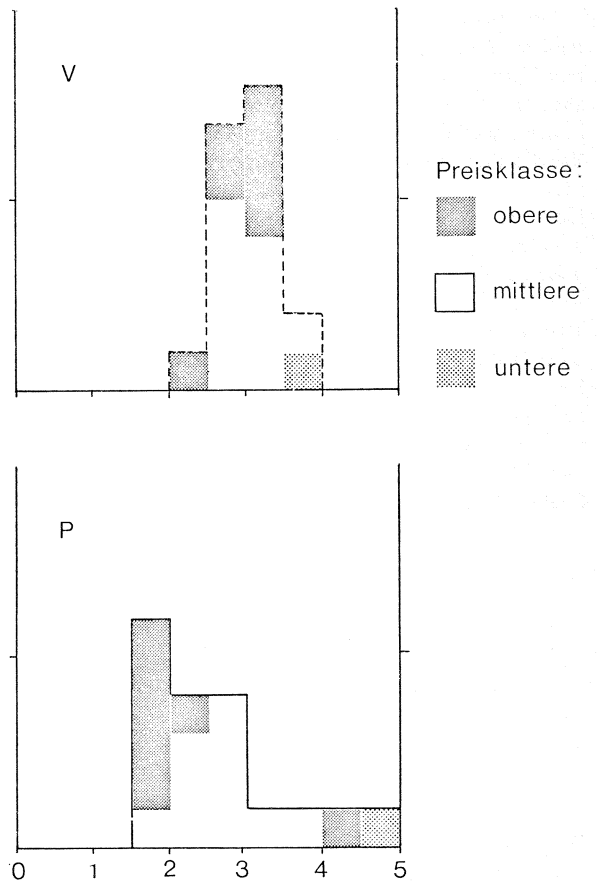


Abb. 3. — Sensorische Einstufung des deutschen Röstkaffee-Marktes durch Profi-Tester und Verbraucher, getrennt nach Preisklassen

LITERATUR

- (1) KIERMEIER (F.), HAEVECKER (U.). — *Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch.* **141** (1969) 277-290 u. folgende Mitt.
- (2) STEINER (E. H.). — *J. Food Technol. (England)* **1** (1966), 41-53.
- (3) AMERINE (M. A.), PANGBORN (R. M.), ROESSLER (E. B.). — *Principles of Sensory Evaluation of Food.* Academic Press, New York, London, 1965.
- (4) PERYAM (D. R.), PILGRIM (F. J.). — *Food Technol.* **11** (1957) September, suppl. p. 9-14.
- JONES (L. V.). — *U. Mitarb., Food Res.* **20** (1955) 512-520^r
- (5) WAGNER (K. G.). — *Dt. Lebensm.-Rdsch.* **46** (1950) 8-11 ; sowie in der gleichen Zeitschrift in mehreren Mitteilungen davor und danach.

HÆVECKER (U.). — **Détermination de la qualité de cafés et de produits du café à l'aide d'enquêtes auprès des consommateurs.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969, A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 254-258, fig., tabl., réf.

Deux techniques d'analyse sensorielle, convenant bien aux enquêtes auprès des consommateurs, ont été récemment appliquées aux dégustations de café. L'examen de différences par paire avec calcul séquentiel est conseillé si l'on désire connaître l'aptitude d'un consommateur à détecter de faibles différences entre des cafés proches. Le déroulement de la dégustation est contrôlé à l'aide d'un graphique et peut être interrompu dès que les limites déterminées statistiquement au préalable sont atteintes. En ce qui concerne l'essai d'appréciation une échelle à cinq paliers s'est révélée supérieure à l'échelle habituelle en 9 points (— 4 à + 4) : 1 très bon, 2 bon, 3 satisfaisant, 4 moins satisfaisant, 5 non satisfaisant.

HÆVECKER (U.). — **Determination of the quality of some coffees and coffee products by means of consumer studies.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969, A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 254-258, fig., tabl., réf.

Two techniques of sensory analysis well adapted for surveys among consumers have recently been applied to coffee tasting.

A two-sided paired comparison with a sequential analysis is recommended if one wants to know whether a consumer is able to detect small differences between two coffees which are nearly similar.

The tasting is checked with a diagram and it can be stopped when the limits previously determined statistically are reached. As far as the rating and scoring test is concerned a scale with five levels proved better than the usual scale with nine marks (— 4 to + 4) : 1 very good, 2 good, 3 satisfactory, 4 less satisfactory, 5 unsatisfactory.

HÆVECKER (U.). — **Qualitätsbestimmung von Kaffee und Kaffee-Erzeugnissen mittels Verbraucherumfragen.** Quatrième Colloque International sur la Chimie des Cafés verts, torréfiés et leurs dérivés, Amsterdam, 2-6 juin 1969, A. S. I. C. (Paris), 1970, p. 254-258, fig., tabl., réf.

Zwei sensorische Prüftechniken, die sich zur Verbraucherbefragung gut eignen sind kürzlich bei Kaffeeverkostungen angewendet worden. Eine paarweise Unterschiedsprüfung mit Sequenzrechnung wird empfohlen um zu erkennen, ob der Verbraucher kleine Unterschiede zwischen ähnlichen Kaffees erfasst. Der Fortgang der Prüfung während des Kostens wird mittels einer Graphik laufend überwacht und kann abgebrochen werden sobald die bestimmten, vorher festgelegten statistischen Grenzen erreicht sind. Andererseits hat sich zur bewertende Prüfung eine Fünf-Stufen-Skala besser bewährt als die übliche Neun-Punkte-Skala : 1 sehr gut, 2 gut, 3 zufriedenstellend, 4 weniger zufriedenstellend, 5 nicht zufriedenstellend.

DISCUSSION

M. KADEN : Herr D. H. Haevecker hat uns mit seinem Vortrag einen Einblick in die vielfachen Verbrauchertests gegeben, die er zur sensorischen Qualitätsbeurteilung von Röstkaffeemischungen durchzuführen pflegt. Er empfiehlt keine weit aufgestufte Qualitätseinteilung zu wählen und beschränkt sich auf fünf Noten, wobei er die schlechteste als « nicht zufriedenstellend » bezeichnet. Diese einfache Art der Qualitätseinteilung ist auch nach meinen Erfahrungen zweckentsprechend. Ich empfehle allerdings noch eine sechste Qualitätseinstufung zu verwenden und die betreffenden Aufgüsse mit « untrinkbar » zu bezeichnen.

Sachkenner pflegen die Geschmackunterschiede von Kaffeeaufgüssen am treffendsten bei eigenen Aufbereitungsversuchen, bei Röstversuchen und bei der Komposition von Mischungen zu beurteilen. Bei Laienprüfungen kann man manchmal sein « Blaues Wunder » erleben. Da es sich jedoch bei Röstkaffee um eine Handelsware handelt, ist es wichtig auf die Geschmacksrichtungen der Verbraucher einzugehen. Hierüber wäre vieles zu sagen. Ich möchte nur hervorheben, dass das männliche Publikum verhältnismässig einseitig urteilt, im Gegensatz zu den Frauen. Weil aber die Frauen den meisten Kaffee verbrauchen, ist es empfehlenswert, bei der Zusammenstellung von Mischungen vor allem weibliche Testpersonen zu befragen.

M. NAVELLIER : L'exposé du Dr Haevecker est, je crois, le premier qui concerne spécialement l'analyse sensorielle du café, et je souhaite que cette activité soit développée dans le cadre de la 4^e Commission de l'A. S. I. C.

M. HAEVECKER : Ich bin gern bereit, im Rahmen der ASIC, soweit ich das kann mit meinen Kenntnissen der sensorischen Analysen beim Kaffee, sei es durch Profitester, sei es durch Verbraucher, sei es durch die wissenschaftliche Anordnung von sensorischen Proben, mitzuhelfen. Wenn sich eine solche Frage in Ihrer Generalversammlung realisieren sollte, zumindestens möchte ich mich bei Ihnen für diesen Vorschlag herzlich bedanken.

M. KURZ : Vor einiger Zeit haben wir bei unseren Kunden eine Probe gemacht und zu diesem Zweck haben wir zwei Muster A und B verarbeitet. Beide Muster waren reine Bohnenkaffees verschiedener Qualitäten. Die Muster A und B wurden halbiert und in der Fabrik vermahlen. Die gemahlene Qualität A' und B' haben wir auch bei den selben Kunden ausgesetzt. Es hat sich dann herausgestellt, dass die Bohnenqualität A präferierte über die Qualität B aber dass die Sorte B' präferierte über die Sorte A'. Gibt es eine Bohnenqualität, die das Mahlen besser aushalten kann ?

M. HAEVECKER : Ich muss mich natürlich bloss auf meinen eigenen Ketten verlassen, weil ich Ihre spezielle Überfragung nicht kenne und nicht mitgemacht habe. Es ist aber wahrscheinlich so, dass Sie in der Fabrik klein oder gross—technologisch die Vermahlung wesentlich schonender durchführen können als die Hausfrau. Es könnte daran liegen, dass die modernen Schlagwerk-möhlen ein Teil des Aromas verflüchtigen lassen und dass darum die Unterschied Ihrer beiden Befragungen herausgekommen sei.

M. WILBAUX : Je voudrais simplement signaler au Dr Haevecker que nous avons établi dans notre laboratoire une méthode qui tenait compte d'abord des goûts élémentaires : amertume, astringence, acidité, etc... Les dégustations que nous effectuons sont surtout faites pour se rendre compte des résultats d'essais technologiques réalisés au stade primaire outre-mer, et l'importance que nous avons donné aux goûts de base et à certains goûts particuliers n'a peut-être pas sa place dans une enquête auprès du public.

Nous donnons une cotation de synthèse, mais nous avons huit catégories allant de « très bon » (1) à « inconsommable » (8). Je dois reconnaître qu'à partir de (6) : mauvais, très mauvais et inconsommable, la répétabilité est très mauvaise. Il y a un seuil à partir duquel la qualité est tellement basse qu'on ne peut plus distinguer les degrés de cette mauvaise qualité. Par contre, dans les qualités « bonne », « très bonne » et « plus qu'acceptable », les degrés sont nettement notés.

Il y a une relation entre l'aspect du café vert et le goût du café torréfié. Une question de barème entre en jeu, mais jusqu'à 250, 270 défauts, la courbe traduisant la relation entre la cotation gustative et les défauts en vert est une parabole.

Je voudrais également indiquer que notre équipe de dégustateurs comporte quatre femmes et deux hommes.

COMMENTAIRE

sur les exposés présentés dans le cadre de la quatrième commission

M. MÜLLER-LIMMROTH : Ich sehe ein, dass es keine Diskussion geben kann, wenn die Autoren nicht da sind.

Ich möchte nur eine methodische Bemerkung machen — wenn es gestattet ist. Das Coffein ist eine so interessante Substanz im Zentralnervensystem, dass es — so glaube ich — dringend notwendig ist, die Methodik zu erweitern und bei der zentralen Wirkung sich nicht auf die Messung der motorischen Aktivität einerseits und der Krampfschwelle zu beschränken. Die Krampfschwelle gibt lediglich an, wann die Neurone des Gehirns in Synchronisation geraten. Das ist ein patho-physiologischer Vorgang und ich glaube, der interessiert uns beim Kaffee nicht so sehr als die Wirkungen im physiologischen Bereich. Ich würde also dringend vorschlagen, dass die künftigen Untersuchungen sowohl im Tierexperiment als auch beim Menschen die Messung der Aktivität in anderen Hirngebieten einschliessen. Ich darf hier in diesem Zusammenhang erwähnen, dass sich z. B. mit Mikroelektroden zeigen lässt, dass Coffein in dem Gebiet, wo die emotionale Einstellung des Individuums gesteuert wird, so die Affektlage, es z. B. Hemmungen gibt — nicht nur Erregung. Wenn man beispielsweise den Hypokampus reizt, so bekommt man eine Hemmung im Bereich des Hirnareals unter Coffein.

Andere Areale werden erregt, also kurzum, im Tierexperiment ist es notwendig, Hypokampusentladungen und was für die Steuerung der Wachsamkeit, Aufmerksamkeit und Vigilanz wesentlich ist, eine Ableitung der Retikularformation. Wir wissen, dass wir selbst das Bewusstsein, d. h., die Frage, ob etwas bewusst oder nicht bewusst wird, überhaupt nicht von der Hirnrinde abhängig ist. Sie können beim tiefnarkotisierten Tier Antworten in der Hirnrinde ableiten, es wird dem Tier, weil es narkotisiert ist, nicht bewusst. Warum nicht? Weil die Begleitaktivierung der Retikularformation fehlt. Und hier wirkt Coffein. Ich meine, dass man methodisch jetzt ins Detail gehen muss, wenn man physiologische Wirkungen haben will. Beim Menschen lässt sich auch einiges messen. Gestern tauchte beispielsweise die Frage auf, Herzdurchblutung, Koronardurchblutung usw... Ich glaube noch nicht einmal, dass diese Dinge so entscheidend sind, die sich mit den FFS usw. befassen; sondern ich glaube, wir müssten dringend messen mit Herzkathetern unter Coffeineinfluss, ob sich während der Herzaktion der enddiastolische Druck ändert. Wenn « ja », würde sich der intramurale Druck in der Herzmuskelwand erhöhen und damit würde der Druckgradient zwischen koronarem Druck und Herzmuskeldruck verringert werden und es könnte dann wohl zu hypoxämischen Zuständen im Bereich des subendokardialen Gebiets kommen. Also, diese Dinge wären ebenfalls notwendig, um zu prüfen, ob am Koronarsystem ein Einfluss stattfindet oder nicht. Und was das Zentralnervensystem beim Menschen angeht — das wichtigste Kriterium für die Bestimmung des vegetativen Tonus — ist m. E. nach den neueren Dingen der Schlaf.

Wenn man die Methode von Aselinski und Kneipmann anwendet, d. h., Messungen der verschiedenen Schlafzeiten, und zugleich die Motilität elektromyographisch untersucht, Messungen der schnellen Augenbewegungen in den paradoxalen Schlafphasen mitanalysiert, dann kann man sehr, leicht vegetative Tonusschwankungen messen. Eine Lärmexposition von einer Viertelstunde genügt schon, um, wenn der Betreffende anschliessend schläft, 1-2 Stunden lang vegetative Schwankungen zu machen. Wir haben derartige Messungen unter Coffein und coffeinfreiem Getränk angestellt. Es lässt sich dann z. B. zeigen, dass wir beim coffeinfreien Getränk keinen normalen Schlaf haben, insofern nicht, als die paradoxalen Schlafphasen deutlich vermehrt sind, was wesentlich besser ist als eine Auslöschung der paradoxalen Schlafphasen, wie beispielsweise durch Alkohol und Schlafmittel. Ich meine also, dass die Prüfung des vegetativen Tonus eine Angelegenheit ist, die eine Untersuchung im Schlaf notwendig macht. Die Messung des Wachzustandes des Menschen ist möglich dadurch, dass man dem Menschen eine Folge von Klichreizen — kurzen Tonreizen aus einem Lautsprecher — oder Blitzreize anbietet und über ein Computersystem die emotionierte Potentiale der Höhr — oder Sehphäre ableitet, das zeigt sich in Schwankungen der Amplitude und der Vigilanz. Ich möchte glauben, dass mit derartigen Untersuchungen, die wir jetzt gerade begonnen haben, wir auch mit physiologischen Dosen von Methylxanthinen Wirkungen feststellen können. Ich möchte aber sagen, dass die neuere Physiologie bei der Frage des Zentralnervensystems und Kaffeewirkungen etwas stärker in den Vordergrund kommen sollte.

RAPPORT DE SYNTHÈSE

présenté par P. NAVELLIER

Le présent colloque international est donc le quatrième qui nous ait réunis pour parler de la chimie des cafés verts, torréfiés et leurs dérivés. Il s'est déroulé du 2 au 6 juin 1969, à Amsterdam. Ce colloque a été préparé par notre Président, M. VERHAAR, dont nous avons tous apprécié l'excellente organisation, la courtoisie inépuisable et la compétence dans tous les domaines. Je pense que nous pouvons, sans attendre les discours de clôture, lui exprimer déjà nos remerciements et notre approbation pour l'excellente préparation de ce colloque (applaudissements).

Bien entendu, M. VERHAAR a reçu l'aide des membres du bureau et d'un comité d'organisation auquel MM. JANS, DUYVERMAN, de HEUS et WEURMAN ont apporté une très efficace participation et nous les remercions d'autant plus que cette participation a été très discrète ; nous n'avons vu apparaître ces Messieurs que sous l'aspect d'hôtes accueillants, d'amis vigilants, et de collègues éminents, mais nous savons par expérience tout le travail qu'ils ont dû s'imposer avant le colloque, et je crois qu'à eux aussi nous devons manifester notre très vive reconnaissance (applaudissements).

Que dire enfin de cette grande salle de conférences de l'Institut royal des régions tropicales, qui allie le prestige d'un monument traditionnel, avec son splendide plafond, au confort d'un amphithéâtre extrêmement moderne, dont nous avons pu apprécier les équipements tout à fait perfectionnés ; c'est la plus vaste des salles dans laquelle se soit jamais déroulé un de nos colloques. Nous devons savoir gré aux organisateurs de nous avoir donné ce cadre particulièrement accueillant et confortable ; nous sommes en effet 110 participants, alors qu'au précédent colloque, à Trieste, en 1967, nous étions 98, contre 81 en 1965 à Paris et une cinquantaine au premier colloque en 1963 à Nogent-sur-Marne ; cette fois-ci, vingt pays étaient représentés, il y en avait 19 en 1967, 15 en 1965, 11 en 1963. Ces quelques chiffres soulignent l'évolution de l'influence de l'A. S. I. C. dans le domaine qui est le sien, et l'intérêt croissant que prennent à ses travaux ceux qui nous font le plaisir et l'honneur d'y participer. 35 rapports ont été présentés, en l'espace de cinq jours, au prix, il est vrai, de séances de travail assez chargées, de sorte que les présidents ont dû quelquefois se montrer sévères pour contenir les discussions dans les limites d'un horaire compatible avec les exigences du programme.

A la première séance, nous avons entendu un exposé d'accueil de M. VERHAAR ; puis M. NAGTEGAAL, secrétaire général de l'Institut royal des régions tropicales, nous a présenté d'une manière très vivante l'histoire et le rôle de cet établissement. Cet exposé paraîtra certainement dans les comptes rendus et nous le relirons avec intérêt. Puis M. GOEDHART, représentant Monsieur le Ministre de l'Éducation et des Sciences, a commenté la position des Pays-Bas, situés à un carrefour de routes du trafic international ; cette position a amené ce pays à aborder toutes sortes d'activités.

En 1615, les Vénitiens avaient importé en Europe les premiers cafés, et en 1661 la consommation du café a débuté à Amsterdam. Après cet exposé historique, nous avons eu un complément artistique fort appréciable : les organisateurs ont eu l'idée tout à fait charmante de nous faire entendre la Cantate du café de Jean Sébastien Bach. Ensuite nous sommes allés visiter avec beaucoup d'intérêt l'exposition du café réalisée dans le musée voisin, à l'occasion de notre colloque.

L'après-midi, M. WILMINK a commencé la série des rapports du colloque en nous expliquant très clairement comment, dans le cadre du Marché commun, était entreprise l'harmonisation des législations alimentaires ; il a précisé que, en ce qui concerne le café, le travail d'harmonisation n'avait pas encore commencé, et il est nécessaire de dresser un inventaire des réglementations nationales pour voir comment elles pourraient être harmonisées. J'ai tout particulièrement retenu l'existence d'un comité scientifique, auquel l'A. S. I. C. pourrait peut-être apporter la compétence de certains de ses membres. Puis M. MALTHA et M. EERNSTMAN nous ont montré l'évolution actuelle de la documentation et de l'information. Je retiens notamment de leur rapport qu'ils ont estimé normal qu'un délai de neuf mois existe entre une publication et la présentation de son résumé : je n'ai pas disposé de neuf mois, ni même de neuf jours, pour faire ce rapport de synthèse et je vous prie en conséquence de considérer ce qui va suivre avec la plus grande indulgence.

M. CASTAN a fait le point de la normalisation internationale du café ; il a rappelé d'une part les relations excellentes de courtoisie, de collaboration entre les membres de l'A. S. I. C. et les représentants de l'I. S. O. (Organisation internationale de normalisation), en soulignant que l'A. S. I. C. est maintenant officiellement invitée comme conseiller de l'I. S. O. Il a indiqué que cinquante termes et leurs définitions ont été étudiés dans le vocabulaire qui est la base de toute compréhension, notamment sur le plan international, mais aussi sur le plan humain. En ce qui concerne l'échantillonnage du café, il présente de grandes difficultés, en raison des habitudes différentes selon les pays. Quelques méthodes d'essai ont déjà été adoptées par le sous-comité 8 des stimulants et se trouvent à un stade très avancé de la normalisation internationale, celui de l'approbation par le conseil : ces méthodes sont issues en grande partie des travaux de nos colloques.

Ensuite M. SMITH a fait un très ample tour d'horizon des travaux récents sur la chimie des cafés. Je crois que je ne pourrai pas résumer son exposé sans le déformer complètement : je me contente donc de le signaler, et nous pourrions nous y reporter, ainsi qu'à sa très complète bibliographie.

M. NORTHMORE, en parlant des fèves fermentées, trop fermentées, et de ce qu'il a appelé les « stinkers », a soulevé une polémique extrêmement intéressante de vocabulaire : est-ce que le « stinker » tel que le conçoit M. NORTHMORE, correspond à la « fève à mauvaise odeur » ou à la « fève

puante » telle qu'on la conçoit en France ? Il apparaît que non, et que nous aurions besoin d'une bien meilleure définition de ces éléments déplaisants et très regrettables que l'on trouve dans beaucoup de cafés. C'est pourquoi, je pense, ce travail devrait être repris, d'une part du point de vue du vocabulaire et d'autre part du point de vue scientifique. On appelle une fève « stinker » ou « fève puante » parce que l'on trouve qu'elle sent mauvais, mais on ne sait pas pourquoi elle sent mauvais, on ne sait pas comment en éviter l'apparition, ni même comment la provoquer, ainsi que l'a souligné M. WILBAUX ; il y a donc un problème technologique très important à étudier. En outre, les chimistes ne disposent pas à coup sûr d'échantillons caractérisés de fèves à mauvaise odeur et ils n'ont pas pu, jusqu'à présent, élucider la composition des gaz nauséabonds qu'elles dégagent ; si cette étude pouvait être développée, elle serait féconde, parce qu'elle permettrait peut-être de comprendre le métabolisme particulier de ces fèves, et par conséquent d'arriver à en éviter la formation. J'ai eu l'occasion, au cours de notre réunion, de m'entretenir de ce problème avec M. WEURMAN qui, comme je le rappellerai tout à l'heure, a fait un travail sensationnel sur l'arôme du café ; peut-être cette partie peu sympathique de l'arôme du café pourrait-elle être étudiée très utilement par lui et ses collaborateurs, grâce à leur expérience et aux moyens matériels considérables dont ils disposent.

Nous passons maintenant à la journée de mardi. Nous avons tout d'abord entendu par la voix de M. SMITH un exposé de M. NATARAJAN et de ses collaborateurs sur le rôle de la teneur en eau du café en rapport avec ses possibilités de conservation. Nous avons observé que ce travail, du plus haut intérêt au point de vue pratique, présente une petite difficulté d'interprétation, car les méthodes de dosage de l'eau employées par les auteurs semblent ne pas être les mêmes que celles qui ont été retenues, à la suite des travaux de votre deuxième commission, par l'organisme international de normalisation. Je pense que, là encore, il serait bon de s'entendre sur les méthodes d'analyse pour une interprétation cohérente des résultats.

Le Professeur POISSON et M. de ROSTOLAN ont parlé ensuite de l'état d'avancement des travaux sur la structure de la cafamarine, ce principe amer de certains cafés sauvages de Madagascar, et, bien que la structure complète de cette substance n'ait pas encore pu être élucidée, des progrès considérables ont été obtenus, puisque d'ores et déjà nous savons qu'il s'agit d'une molécule de glucose liée à un enchaînement de nature probablement terpénique. Nous attendons avec beaucoup de confiance et d'intérêt la suite de ces travaux qui présentent une importance théorique, et qui probablement, un jour ou l'autre, auront aussi une importance pratique, que M. COSTE a soulignée au cours de la discussion.

M. BÜRGIN a ouvert un nouveau chapitre dans les travaux de l'A. S. I. C. en nous montrant des préparations microscopiques de diverses espèces de café différemment traitées. Il a notamment montré la différence d'aspect qui apparaît sous le seul effet de la vapeur d'eau et du chauffage, et celle observée au moment où le café est privé de sa caféine, après usage de solvant. Il semble que, là encore, il y ait une voie de recherche

très féconde, et nous espérons la voir se développer dans les temps prochains.

MM. PICTET et MOREAU nous ont présenté un travail (je crois qu'on peut dire le début d'un travail, en raison de l'ampleur prévue) sur les glucides du café vert, leur solubilisation et leur évaluation quantitative. Nous souhaitons vivement que ce travail soit complété dans l'avenir, puisqu'il amorce une étude sur l'évolution des glucides au cours de la technologie du café, en commençant par le café vert et en continuant, du moins je le suppose, par ce que l'on trouvera dans le café torréfié et dans les extraits de café.

MM. WURZIGER et HARMS ont également apporté des notions assez nouvelles dans le domaine des cafés verts et torréfiés, en considérant les hydroxytryptamides qui semblent susceptibles de jouer un rôle très important au point de vue nutritionnel (digestibilité peut-être) et qui, en tous cas, nous ouvrent une voie complémentaire dans la connaissance de la composition du café.

Un second exposé de M. NATARAJAN et de ses collaborateurs, lu par M. SMITH, concerne les composants du triage du café. Là encore, nous nous sommes aperçus que le mot « triage » n'a pas le même sens pour M. NATARAJAN et pour un certain nombre d'entre nous : le triage est l'opération technologique qui consiste à trier le café, mais ce mot désigne souvent le résidu qui résulte du triage. La confusion même qui est apparue au cours de la discussion est à mon avis extrêmement profitable, car elle montre la nécessité de bien clarifier notre terminologie.

J'ai eu ensuite l'occasion, avec Mme BRUNIN et Mme DALGER, de présenter, au nom du Groupe français d'étude, quelques remarques sur le dosage de la caféine, et de souligner les critères auxquels, à notre avis, devrait satisfaire une méthode de référence.

M. FAZZINA et ses collaborateurs, MM. WHITNEY et FERRY, nous ont apporté une éblouissante révélation des possibilités de l'analyse automatisée dans le domaine de la détermination rapide de la caféine. Les auteurs nous ont montré toute une série de schémas et d'illustrations d'un appareil évidemment complexe, qui permet d'effectuer, comme l'a précisé M. FAZZINA, douze dosages par heure, plus les témoins de référence. Il semble que ce soit là une voie extrêmement précieuse pour l'avenir du contrôle dans l'industrie et peut-être dans d'autres services ; mais, ce contrôle automatisé ne pourra être pleinement satisfaisant que si l'on introduit dans les séries des échantillons types dont l'analyse aura été faite par des moyens traditionnels, qui seront des méthodes de référence. Il y a encore là une collaboration extrêmement féconde à attendre entre les laboratoires industriels et les laboratoires de recherche.

M. JANS nous a parlé de divers problèmes, dont quelques-uns fort délicats, au sujet des cafés décaféinés. Les uns concernent les teneurs en caféine et en résidus de solvants, les autres concernent le statut réglementaire de ce produit ; ceci déborde largement sur les réglementations nationales et il est difficile à l'A. S. I. C. de prendre une position dans ce domaine.

MM. RUSSWURM et PAULSEN ont exposé un travail dont personnellement je rêvais depuis longtemps et que je n'avais

pas entrepris faute de moyens : ils ont fractionné l'extrait aqueux d'un café vert pour y rechercher les précurseurs d'arôme. Les fractions ainsi séparées ont été soumises l'une après l'autre à un traitement analogue à la torréfaction et des informations extrêmement intéressantes sur l'évolution des arômes dans ces conditions ont été recueillies. J'ai particulièrement retenu le fait suivant, souligné par M. RUSSWURM : la plupart des fractions, après torréfaction, ne donnent pas des produits dont l'arôme rappelle celui du café, exceptée une fraction qui s'en rapproche assez sensiblement, ce qui permet de supposer que l'arôme du café se développe non seulement par des réactions à l'intérieur d'une de ces fractions, mais probablement par certaines interactions entre les fractions ainsi séparées. Ce travail ouvre une voie nouvelle à la recherche sur la chimie de la torréfaction. Dans la soirée, nous avons eu le plaisir d'entendre dans cette salle un exposé de M. SMIT, illustré de nombreuses projections. Nous avons appris que les philatélistes s'étaient beaucoup intéressés au café. Ensuite nous avons vu que, dans les pays où l'on récolte le café, lorsque le personnel a terminé sa tâche, les danses auxquelles il se livre sont sympathiques et fort esthétiques, et nous les avons tous beaucoup appréciées.

Mercredi, M. HAEVECKER nous a parlé du problème du dosage de l'eau dans les cafés instantanés et nous a montré comment l'analyse statistique permet de faire une étude critique comparative de différentes méthodes ; je pense que ce travail correspond à une nécessité assez urgente dans le domaine de la normalisation, et une étude objective interprétée comme celle de M. HAEVECKER doit nous permettre, dans un avenir assez proche, de proposer une méthode de référence rationnelle qui pourrait être un jour normalisée.

M. THYSSEN a présenté un long rapport (qui nous a paru trop court, tant il était riche de substance) sur l'effet de différents procédés technologiques destinés à retenir les composés aromatiques dans les extraits de café. Nous nous sommes rendu compte que des études fondamentales, même quelquefois éloignées du domaine du café, peuvent être reprises d'une manière fructueuse en ce qui concerne la technologie de ce produit. L'auteur a décrit les phénomènes physico-chimiques qui font que l'arôme s'en va ou demeure, que l'arôme est altéré, ou au contraire, peut être retenu inaltéré. Là encore, nous avons des sujets de méditation et de travaux qui, je pense, nous retiendront encore quelque temps.

M. VAN STRATEN et Mlle de NIE ont attiré notre attention sur des causes d'erreurs que l'on rencontre en chromatographie en phase gazeuse ; quelquefois, on arrive à de mauvais résultats, simplement parce que l'on a utilisé des colonnes qui avaient donné de bons résultats autrefois, mais qui ont évolué au cours du temps sans que l'on s'en rende suffisamment compte.

MM. PYPKER et BROUWER ont abordé l'analyse de l'espace de tête du café en ce qui concerne les constituants les moins volatils, grâce à l'utilisation d'une colonne chromatographique intermédiaire qui permet de rassembler ces constituants avant de les éluer à leur tour et de les séparer pour les identifier.

Ensuite MM. PAARDEKOOPER, CORNELISSEN et DRIESEN ont indiqué des méthodes simples qui rendent des services

dans la technologie du café, notamment la colorimétrie, le tamisage et l'appréciation de la teneur en eau au moyen d'un hygromètre électronique et d'un photomètre.

Le même jour, mercredi après-midi, nous nous sommes séparés en deux groupes : les uns sont allés visiter la firme Douwe Egberts, où M. de HEUS nous avait conviés. Ces collègues sont revenus très vivement impressionnés, d'une part par l'équipement de cette usine extrêmement moderne et d'autre part par l'ampleur des laboratoires. Peu d'industriels consacrent à la recherche et au contrôle de leurs produits autant d'efforts, et je crois que l'on peut féliciter M. de HEUS et ses collaborateurs d'avoir ainsi montré combien la recherche scientifique, et éventuellement certains travaux de l'A. S. I. C., pouvaient être utiles dans leur application. Un autre groupe est allé au laboratoire du T. N. O., où M. WEURMAN nous a d'abord présenté le rapport du groupe de travail sur la chromatographie en phase gazeuse dans le domaine du café. Puis, il nous a fait visiter des laboratoires dont l'équipement fait notre admiration et, il faut bien le dire aussi, notre envie ; je passe rapidement sur ce rapport qu'il est difficile de résumer en quelques mots ; les études sur des colonnes, sur l'injection par flux continu ou discontinu, demandent à être lues et méditées.

Jeudi dernier, un premier rapport de MM. ROLZ, MENCHU, ARIMANY a été présenté par M. WOOTTON à propos de ce qui se passe lors du séchage sur lit du café en cerise. Ce rapport et la discussion qui a suivi ont montré que la technologie a encore un aspect empirique, qui gagnerait certainement beaucoup à être complété par toute une série de déterminations scientifiques, dont l'usage n'est pas encore suffisamment établi, mais je crois qu'il est en train de s'établir si j'en juge par les commentaires que nous avons entendus.

M. THALER et M. ARNETH nous ont parlé des modifications des hydrates de carbone polymères au cours de la torréfaction du café, et notamment des cafés Arabica. L'étude quantitative de ce phénomène a permis de dresser un bilan des constituants : la fraction soluble dans l'eau augmente au cours de la torréfaction, alors que la fraction des holocelluloses diminue, sans doute par dégradation de ces substances. M. WILBAUX, Mlle CHASSEVENT, M. VINCENT, Mme HAHN et Mlle POUGNEAUD ont effectué une étude en collaboration, présentée ici par Mlle CHASSEVENT, sur les relations éventuelles gustatives ou chimiques en fonction de la préparation du café Robusta au stade primaire. Il s'agit d'un travail de longue haleine et il y a lieu de souligner tout particulièrement que, dans le cadre de l'I. F. C. C., il a été possible d'amorcer des études expérimentales sur les lieux mêmes de production et de poursuivre les études analytiques dans les laboratoires de Paris qui disposent d'équipements dont ne disposent pas les laboratoires locaux. C'est un type d'étude extrêmement fécond qui doit être développé.

Le Professeur TELEGDY-KOVATS et Mme KELEMEN-SZILAS ont considéré les effets de la méthode de torréfaction sur la surface active des grains de café. Cette notion de « surface active », débarrassée de la matière grasse par un lavage à l'acétone, donnera peut-être un jour des moyens d'étude tout à fait intéressants dans le domaine de la perte d'arôme du café. Il faut remercier vivement les auteurs d'avoir

pensé que le bleu de méthylène peut être un réactif très utile dans la chimie analytique du café.

M. VAN VEEN a renouvelé nos techniques de mesure granulométrique en présentant un modèle de tamis à jet d'air capable d'apporter des possibilités tout à fait nouvelles à l'analyse granulométrique ; évidemment, le souci du rapporteur était d'ordre technologique : donner une poudre de granulométrie définie à la clientèle qui achète du café moulu. Mais, au laboratoire, l'influence de la granulométrie est grande lorsque l'on veut par exemple déterminer l'extrait soluble et il y a là des voies nouvelles d'étude à explorer.

M. HAEVECKER a parlé de la détermination de la qualité du café et des produits du café en s'appuyant sur des enquêtes effectuées auprès des consommateurs. Nous avons discuté un certain nombre de barèmes et le désaccord, qui une fois de plus est apparu, semble très instructif. Il est souhaitable que des études de ce type reçoivent un développement dans le cadre de notre quatrième commission « caractères organoleptiques et effets physiologiques », commission dans laquelle les caractères organoleptiques ont tenu jusqu'à présent une place insuffisante : il y a là un travail très important à effectuer.

M. HEYDEN a évoqué les actions physiologiques du café en apportant une attention particulière au métabolisme des lipides. Nous avons eu une série de rapports extrêmement importants qu'il serait difficile de résumer sans trop les déformer, car ils comportaient une grande part d'information d'après des données bibliographiques évoquant un certain nombre d'expérimentations destinées à confirmer ou à infirmer les résultats précédents ; en ce qui me concerne, j'avoue que j'aurais besoin de relire cet exposé pour en tirer la substantifique moelle, comme disait Rabelais. Je dirais un peu la même chose du rapport de MM. CZOK et BÖNICKE sur l'activité antithiaminique du café. Nous serons très intéressés de connaître la suite de ce travail, et de savoir dans quelle mesure les observations faites sur le lapin peuvent s'appliquer à l'homme.

M. MÜLLER-WIELAND a parlé du rôle des méthylxanthines sur le métabolisme des sucres et des matières grasses ; une série de tests a montré qu'il y a probablement une certaine influence par l'intermédiaire de la mise en liberté de l'insuline, lorsque des produits comme la théophylline, la caféine, la théobromine sont absorbés. Mais, là encore, les difficultés viennent du fait qu'une expérimentation sur l'homme laisse une part d'indécision qui sera, je pense, clarifiée par des travaux futurs.

MM. STRUBELT, STEFFEN et STUTZ ont évoqué l'influence de la fonction thyroïdienne sur quelques actions du café, de la caféine et de la théophylline ; ils estiment que l'on peut admettre que la fonction thyroïdienne modifie l'action métabolique activante des méthylxanthines, ce phénomène s'accompagnant de réactions secondaires sur le système circulatoire.

MM. HAMMERL, KRÄNZL, NEBOSIS, PICHLER et STUDLAR ont étudié le métabolisme des matières grasses et des hydrates de carbone après administration de différentes sortes de café. Sur trente personnes, ils ont observé le comportement des acides gras libres, de la glycérine libre, des triglycérides, des dérivés cétoniques du glucose, du lactate et du pyruvate, après administration de café normal, de café déca-

féiné et de café traité selon LENDRICH ; là encore ce sont des études qui se développent.

Quant à M. ADRIAN, Mme FRANGNE, MM. PENA, XABREGAS et CORTE DOS SANTOS, ils ont mis en évidence l'utilité de faire consommer du café aux populations atteintes de pellagre et vous avez certainement en mémoire leurs commentaires et les photographies très convaincantes qu'ils ont montrées ce matin. Dans son second rapport, M. ADRIAN a parlé des répercussions sur la nutrition de l'introduction de la boisson de café dans la ration du rat en croissance. Les auteurs ont discuté l'influence éventuelle de la consommation du café sur l'alimentation et sur le métabolisme hépatique.

Enfin au nom du Professeur VALETTE et de Mlle MORIN, j'ai présenté un certain nombre d'études pharmacologiques sur les effets de l'acide chlorogénique, éventuellement combiné avec ceux de la caféine ; là encore, il s'agit d'études physiologiques en cours dont la suite est attendue avec intérêt.

Monsieur le Président, ce rappel des travaux exposés ici a été extrêmement rapide, et je prie les auteurs de m'excuser si j'ai un peu trop déformé leur pensée principale. Je suis cependant amené à présenter deux remarques :

En premier lieu, j'ai observé l'intérêt extrêmement soutenu avec lequel nous avons tous écouté les rapports et les discussions qui les ont suivis. J'ai l'occasion d'assister à de nombreuses réunions internationales et je voudrais souligner que la haute tenue de nos colloques est due à la contribution de rapporteurs de grande valeur et à des discussions animées par des collègues extrêmement compétents. C'est une chose que nous n'apprécierons jamais assez et nous ne saurons jamais trop remercier ceux qui ont bien voulu nous apporter leur précieuse contribution.

Deuxième remarque : je constate que nous avons débuté en 1963 par un colloque improvisé, une invitation d'une dizaine de personnes qui s'est transformée en un petit congrès de près de cinquante personnes, et nous nous sommes séparés au bout de trois jours en ayant l'impression d'avoir tout juste fait connaissance et à peine ébauché nos travaux. Les années suivantes, nous avons créé l'A. S. I. C., tenu un deuxième colloque en 1965, un troisième en 1967 et un quatrième en 1969. Ceux d'entre vous avec lesquels j'ai eu l'occasion d'en parler ont estimé que le travail n'était pas achevé et qu'il faudrait continuer. Eh bien, je suis particulièrement heureux, Monsieur le Président, d'avoir peut-être eu une petite responsabilité dans le coup d'envoi de ces colloques, mais aussi de constater qu'actuellement je suis devenu tout à fait inutile, cela marche très bien sans moi, et c'est pourquoi je me contente de faire un rapport de synthèse extrêmement succinct, sachant que chacun d'entre vous a parfaitement tiré parti de toutes les journées de travail tellement fructueuses que nous avons vécues et pourra les revivre en consultant les comptes rendus de ce quatrième colloque. Je vous remercie, Monsieur le Président.

Pierre NAVELLIER

Secrétaire scientifique de l'A. S. I. C.

René COSTE

Secrétaire administratif de l'A. S. I. C.

CLOSING REMARKS

G. VERHAAR

President of ASIC

Ladies and Gentlemen,

We have now come to the end of the scientific part of our program and are about to close this Fourth Colloquium, organised by ASIC. I am doing this with a feeling of great satisfaction.

Only six years ago, ASIC had its humble beginning when, at the initiative and through the efforts of Mr. Coste and Mr. Navellier, about 25 scientists met in Paris to get personally acquainted and discuss the results of their labors. This was an immediate success and led to a second meeting in Paris in 1965, where ASIC formally came into being. Since then it has grown in number and importance, as was clearly witnessed by the Third Colloquium, held in Trieste in 1967. During the last two years, firm links were established with other international bodies, such as FAO and ISO, working in associated fields of interest.

After listening to Mr. Navellier's exposé, one cannot help but conclude that the scientific program of this Fourth ASIC Colloquium was a high-level one and that important, even some very important, contributions were made to our knowledge of coffee production and processing. Our very sincere thanks are due to all the speakers, who have put so much effort into coming to Amsterdam to give us the opportunity to share with them the results of their experience and knowledge.

I would further like to thank all ASIC members and further participants to this Colloquium for their support by attending and participating in the discussions and for creating in their mutual contacts the friendly and cordial atmosphere, so characteristic of this organisation.

I would fail in my duty as your President, if I did not thank also the Secretary General of the Royal Tropical Institute for so generously making all the facilities of the Institute available to us and for his personal interest in the success of this Colloquium.

Anyone with experience in organizing an event such as this one knows how many helping hands are needed to get things done, at the right time, in the right manner and in the right order. For all the assistance and cooperation I received in this respect I want to thank the members of the Organizing Committee, the Public Relations Office and the Technical Services Department of the Tropical Institute, the Congress Bureau, better

known to you by now as that charming group of young ladies who, far beyond the call of their duties, added so much spice of life to your stay here, and, also, the interpreters for a difficult job, excellently performed.

I consider it as an official recognition of the standing of ASIC in the field of science that Her Majesty's Government, through the representative of the Minister of Education and Sciences, has actively supported its work and shown a lively interest in its aims and accomplishments. We are, likewise, indebted to the City of Amsterdam for receiving us so warmly and giving us the feeling that we were welcome guests.

The Union of Coffee Roasters and Tea Packers, the firm of Douwe Egberts and the firm of Coffex have given us wonderful receptions for which we wish to express our sincere gratitude and appreciation.

Finally, we have another two-year period in front of us, in which the work will go on and I am sure I speak on behalf of all of you when I say that we are already looking forward to meeting again at the Fifth ASIC Colloquium. With your support, and through our combined efforts, we will succeed.

Thank you.

