

# Nachweis von Konservierungsmitteln : Vorschläge zur 4. Auflage des Schweizerischen Lebensmittelbuches

Autor(en): **Fellenberg, Th. von / Krauze, Stan. / Werder, J.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und  
Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **23 (1932)**

Heft 3

PDF erstellt am: **23.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983181>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

# MITTEILUNGEN

## AUS DEM GEBIETE DER LEBENSMITTELUNTERSUCHUNG UND HYGIENE

VERÖFFENTLICHT VOM EIDG. GESUNDHEITSAMT IN BERN

## TRAVAUX DE CHIMIE ALIMENTAIRE ET D'HYGIÈNE

PUBLIÉS PAR LE SERVICE FÉDÉRAL DE L'HYGIÈNE PUBLIQUE A BERNE

---

ABONNEMENT:

Schweiz Fr. 10. —; für Mitglieder des Schweiz. Vereins analytischer Chemiker Fr. 5.— per Jahrgang  
Suisse fr. 10. —; pour les membres de la Société suisse des Chimistes analystes fr. 5.— par année.  
Preis einzelner Hefte Fr. 1. 80. — Prix des fascicules fr. 1. 80.

---

BAND XXIII

1932

HEFT 3

---

### Nachweis von Konservierungsmitteln.

#### Vorschläge zur 4. Auflage des Schweizerischen Lebensmittelbuches.

Von Dr. TH. von FELLEBERG und Dr. STAN. KRAUZE.

(Aus dem Laboratorium des Eidgenössischen Gesundheitsamtes,

Vorstand: Prof. Dr. J. Werder.)

---

Die vorliegende Arbeit bezweckt, einem uns erteilten Auftrag gemäss Vorschläge für das Kapitel «Konservierungsmittel» der Neuauflage des Schweizerischen Lebensmittelbuches zuhanden der damit betrauten Kommission auszuarbeiten.

Wir teilen das Kapitel in anorganische und organische Konservierungsmittel ein und letztere wieder in aliphatische und aromatische. Für die aromatischen Konservierungsstoffe schliessen wir einen Analysengang an zur Trennung der einzelnen Verbindungen dieser Gruppe. Von quantitativen Methoden führen wir nur diejenigen auf, welche Konservierungsmittel betreffen, die bei gewissen Nahrungsmitteln gestattet sind.

Wir haben die hier mitgeteilten Vorschläge nicht einfach aus der Literatur zusammengetragen, sondern grösstenteils bis ins kleinste experimentell bearbeitet. Unser Bestreben war nicht nur auf den sichern Nachweis gerichtet, sondern auch auf möglichste Einfachheit und Raschheit der Ausführung. Wir werden unser experimentelles Material der Raumersparnis wegen nicht allzu ausführlich bringen, sondern mehr zusammenfassend in den Erläuterungen, die wir unsern Vorschlägen anschliessen.

## Konservierungsmittel.

Ihre Anwendung.

### *I. Anorganische Konservierungsmittel.*

1. Nachweis von Borsäure;
2. Nachweis von Fluorwasserstoffsäure;
3. Nachweis von schwefliger Säure;
4. Bestimmung der freien schwefligen Säure in Most und Weisswein;
5. Bestimmung der freien schwefligen Säure in Rotwein;
6. Bestimmung der gesamten schwefligen Säure in Most und Weisswein;
7. Bestimmung der gesamten schwefligen Säure in Rotwein;
8. Nachweis von Thiosulfat;
9. Nachweis von Salpeter;
10. Nachweis von Wasserstoffsuperoxyd.

### *II. Organische Konservierungsmittel.*

#### **A. Aliphatische.**

11. Nachweis von Formaldehyd;
12. Nachweis von Ameisensäure;
13. Bestimmung der Ameisensäure in Fruchtsäften.

#### **B. Aromatische.**

14. Allgemeines;
15. Vorbereitung;
16. Nachweis von Benzoesäure;
17. Bestimmung der Benzoesäure in Konfitüre;
18. Nachweis von Zimtsäure;
19. Trennung von Benzoesäure und Zimtsäure;
20. Nachweis von Salicylsäure;
21. Trennung von Benzoesäure und Salicylsäure;
22. Nachweis von Mikrobinsäure;
23. Nachweis von p-Oxybenzoesäure und ihren Estern.
  - a) Gruppenreaktion mit Millon's Reagens;
  - b) Abtrennung des Vanillins;
  - c) Nachweis der p-Oxybenzoesäure;
  - d) Trennung nach dem Verteilungskoeffizienten;
  - e) Nachweis der veresterten Alkohole.
    - $\alpha$ ) Chromsäureverbrennung;
    - $\beta$ ) Methylalkoholnachweis;
    - $\gamma$ ) Propylalkoholnachweis;
    - $\delta$ ) Aethylalkoholnachweis.
24. Nachweis und Trennung der aromatischen Konservierungsmittel in einem Analysengang.

## Die Anwendung der Konservierungsmittel.

Die folgende Tabelle gibt an, welche Konservierungsmittel nach *Behre*<sup>1)</sup> bei einzelnen Nahrungsmitteln angewendet und in welchen Mengen sie zugesetzt zu werden pflegen, sowie welche Mengen nach *Sabalitschka*<sup>2)</sup> zur Konservierung einiger Lebensmittel genügen (Siehe folgende Seite).

### I. Anorganische Konservierungsmittel.

#### 1. Nachweis von Borsäure.

*Vorbereitung:* 10 g oder cm<sup>3</sup> Material werden verwendet. Bei Substanzen, die eine alkalische Asche hinterlassen, wie Wein, Fruchtsäfte, Konfitüren, Gemüsezubereitungen, Milch, wird ohne Zusatz verascht. Bei Substanzen mit saurer Asche, wie Käse, Fleisch, Fleischpräparaten, werden 2 Tropfen 10%ige Sodalösung zugesetzt. Feste Stoffe, wie Fleisch, brauchen nicht ganz verarbeitet zu werden. Man stellt eine Abkochung des fein zerschnittenen Fleisches mit der doppelten Menge Wasser her und filtriert durch Watte. Man verbrennt in einer Platin- oder Porzellanschale, wobei etwas Kohle zurückbleiben darf.

*Nachweis:* Die meist kohlereiche Asche wird mit 0,2 cm<sup>3</sup> Wasser, oder wenn zur Benetzung mehr nötig ist, mit etwas mehr versetzt und mit 1 Tropfen konzentrierter Salzsäure angesäuert. Man lässt die Lösung durch einen Streifen Kurkumapapier aufsaugen. Bei hohen Gehalten an Borsäure färbt sich der Streifen sofort bräunlich, bei niedrigen Gehalten tritt die Färbung erst ein, wenn der Streifen auf dem Wasserbad getrocknet wird. Beim Betupfen mit Ammoniak schlägt die Farbe in Blau, bei sehr hohen Gehalten in schwarz um.

Empfindlichkeit: bei 0,1 mg deutliche Reaktion.

#### 2. Nachweis von Fluorwasserstoffsäure.

*Vorbereitung:* 100 g oder cm<sup>3</sup> Material werden verarbeitet. Stoffe, die eine alkalische Asche hinterlassen, wie Wein, Fruchtzubereitungen, werden ohne Zusatz, Stoffe mit saurer Asche mit Zusatz von etwas Calciumhydroxyd in einer Platinschale verascht (vergl. Borsäure).

*Nachweis:* Wie in der 3. Auflage.

Empfindlichkeit: 5 mg in 100 cm<sup>3</sup> Wein, 1 mg in 100 cm<sup>3</sup> Milch.

#### 3. Nachweis von schwefliger Säure.

*Vorbereitung:* Von Flüssigkeiten werden 20—30 cm<sup>3</sup> in einen Erlenmeyerkolben von 150 cm<sup>3</sup> Inhalt gebracht, von Fleisch werden 20 g fein zerhackt und mit 30 cm<sup>3</sup> Wasser in den Kolben gebracht. Man fügt in allen Fällen 5 cm<sup>3</sup> 10%ige Phosphorsäure hinzu.

<sup>1)</sup> Chem. Ztg., 54, 325, 346, 1930.

<sup>2)</sup> Zeitschr. für anal. Chem., 82, 110, 1930.

Konservierungsmittel	nach Behre:		nach Sabalitschka:	
	Nahrungsmittel	Höchstmenge ‰	Nahrungsmittel	Zur Konservierung genügende Menge ‰
Borsäure	Krabben, Anchovis etc.	0,9 (0,75)	—	—
Fluorwasserstoffsäure	Fruchtsäfte	0,075	—	—
Schweflige Säure	Wein, Trockenobst, Gelatine	0,125 bei Dörrobst	—	—
Wasserstoffsperoxyd	Fische, Fischkonserven	0,07	—	—
Formaldehyd	Kaviar, Krebschwänze	0,1	—	—
Hexamethylentetramin	» » Fischkons.	0,05	—	—
Ameisensäure	Fruchtsäfte, Fruchtmark	0,024 bei Zitronensaft 0,15 bei Fruchtsäften	—	—
Benzoessäure	Eigelb, Fischkonserven, Margarine, Fruchtsäfte, Fruchtmark, Gurken, Senf	0,5; 1,5 - 2 bei Eigelb	Gelatinegallerte	etwas über 0,1
Salicylsäure	Fruchtsäfte, Lachskonserven	0,1	—	—
Mikrobinsäure	Obstsäfte, Fischkonserven	0,5	—	—
p-Oxybenzoessäure	—	—	—	—
» » -Methylester	Fischkonserven	—	Gelatinegallerte Margarine Schweineschmalz	0,03—0,085 0,125 0,15
» » -Aethylester	Fischkonserven	0,2	—	—
» » -Propylester	Fischkonserven	0,125	Malzextraktlösungen, Bierwürzen	0,04
Mischung von Methyl- und Aethylester	—	—	Saure Kirschen Pülpfen, Mark, Apfelmus	0,074 0,08
Mischung von Aethyl- und Propylester	—	—	Traubenmost Apfelwein	0,09 0,07

*Nachweis:* Man hängt einen Streifen Kaliumjodat-Stärkepapier in den Kolben, indem man ihn mit einem Korkpfropfen festklemmt, und erwärmt gelinde. Bei Anwesenheit von schwefliger Säure entsteht eine Blaufärbung, die nach weiterer Einwirkung wieder verschwindet.

4. *Bestimmung der freien, schwefligen Säure in Most und Weisswein.*

Wie in der 3. Auflage, jedoch titriert man mit einer  $\frac{n}{64}$ -Jodlösung. Durch Multiplikation der Anzahl  $\text{cm}^3$  Jodlösung mit 10 erhält man den Gehalt des Weines an schwefliger Säure in mg im Liter.

5. *Bestimmung der freien, schwefligen Säure in Rotwein.*

Nach L. Benvegnin und E. Capt.<sup>3)</sup>

Die Bestimmung wird im Prinzip gleich vorgenommen wie in Weisswein, jedoch mit einer besonderen Beleuchtungsvorrichtung, damit der Umschlag trotz der roten Farbe wahrgenommen werden kann.

Der untere Teil des Apparates besteht in einem zylindrischen Kasten mit Ventilationsöffnungen, in welchem eine mattgeätzte Glühbirne von 40 Watt Platz findet. Darüber befindet sich ein Uhrglas mit gesättigter Kaliumchromatlösung und darüber eine Milchglasscheibe, auf welcher der Kolben mit der zu titrierenden Flüssigkeit steht.

Die Titration wird möglichst in einem Dunkelraum vorgenommen.

6. *Bestimmung der gesamten, schwefligen Säure in Most und Weisswein.*

Siehe 3. Auflage (statt n-KOH ist n-NaOH zu setzen).

7. *Bestimmung der gesamten, schwefligen Säure in Rotwein.*

Man benützt die oben angegebene Beleuchtungsvorrichtung und verfährt im übrigen wie bei Weisswein.

8. *Nachweis von Thiosulfat.*

Siehe 3. Auflage.

9. *Nachweis von Salpeter.*

*Vorbereitung:* 10 g fein gehacktes Fleisch werden mit 20  $\text{cm}^3$  Wasser einige Minuten gekocht und durch Watte filtriert.

*Nachweis:*

*Reagens nach Tillmanns*<sup>4)</sup> 0,085 g Diphenylamin werden mit 190  $\text{cm}^3$   $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1 + 3) versetzt. Man fügt konzentrierte  $\text{H}_2\text{SO}_4$  hinzu, schwenkt um, bis das Diphenylamin sich löst und füllt mit konzentrierter  $\text{H}_2\text{SO}_4$  zu 500  $\text{cm}^3$  auf.

2  $\text{cm}^3$  Reagens werden in ein Reagensglas gegeben und 0,5  $\text{cm}^3$  der zu untersuchenden Flüssigkeit zugefügt. Bei Anwesenheit von Salpetersäure entsteht eine blaue Färbung. Empfindlichkeit: ca. 0,2 mg.

<sup>4)</sup> Z. U. N. G., 20, 690, 1910.

<sup>3)</sup> Mitt., 22, 365, 1931.

10. *Nachweis von Wasserstoffsperoxyd.*

Siehe 3. Auflage.

II. **Organische Konservierungsmittel.**A. **Aliphatische Konservierungsmittel.**11. *Nachweis von Formaldehyd bezw. Hexamethylenetetramin.*

*Vorbereitung:* Von Flüssigkeiten werden 20 cm<sup>3</sup> nach Zusatz von 1 cm<sup>3</sup> Schwefelsäure (1:4) destilliert und 2 cm<sup>3</sup> Destillat in einem Reagensglas aufgefangen. Bei Fleisch werden 10 g fein zerhacktes Material mit 20 cm<sup>3</sup> Wasser und 1 cm<sup>3</sup> Schwefelsäure in derselben Weise destilliert.

*Nachweis:* Man versetzt das Destillat mit 1 Tropfen 1%iger Phenolösung und unterschichtet mit einigen cm<sup>3</sup> konzentrierter Schwefelsäure. Bei Anwesenheit von Formalin entsteht an der Berührungsfläche eine karmoisinrote Schicht.

12. *Nachweis von Ameisensäure.*

*Vorbereitung:* Bei nicht alkoholischen Flüssigkeiten werden 10 cm<sup>3</sup> mit 20 cm<sup>3</sup> Aether ausgeschüttelt; bei alkoholischen Flüssigkeiten werden 20 cm<sup>3</sup> mit NaOH mit Hilfe von Azolithminpapier möglichst genau neutralisiert, auf  $\frac{1}{3}$  abdestilliert, der Rückstand mit einer der zugeetzten Lauge entsprechenden Menge Schwefelsäure versetzt und 10 cm<sup>3</sup> der Lösung mit 20 cm<sup>3</sup> Aether ausgeschüttelt.

*Nachweis:* Die Aetherlösung wird abgetrennt und mit  $\frac{n}{10}$ -NaOH unter Verwendung von Phenolphthalein als Indicator unter kräftigem Umschütteln alkalisch gemacht, wozu meist 2—3 cm<sup>3</sup> Lauge benötigt werden. Man trennt diese wässrige Schicht ab, kocht sie auf, um die letzten Spuren Aether zu vertreiben, säuert mit n-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> an, indem man einen Tropfen mehr zusetzt, als der verwendeten  $\frac{n}{10}$ -NaOH entspricht und destilliert die Flüssigkeit aus einem 25 cm<sup>3</sup> fassenden Fraktionierkölbchen bis auf einen kleinen Rest ab. Das Destillat wird mit einigen Kriställchen Sublimat im Wasserbad 15 Minuten lang erhitzt. Bei Anwesenheit von Ameisensäure entsteht eine mehr oder weniger deutliche Fällung von Calomel, die bei sehr kleinen Mengen nach dem Zentrifugieren deutlicher in Erscheinung tritt.

*Empfindlichkeit:* 3 mg entsprechend 0,3 g Ameisensäure im Liter geben noch eine deutlich sichtbare Reaktion.

*Abschätzung des Gehalts:* Die Menge der Ameisensäure kann folgendermassen abgeschätzt werden: Bekannte Mengen Ameisensäure werden in Reagensgläsern mit Wasser auf das Volumen des Destillats verdünnt, mit kleinen Mengen Sublimat versetzt, 15 Minuten im siedenden Wasserbad erhitzt und mit der Probe verglichen. Da aber nur 40% der Ameisensäure in den Aether gehen, entsprechen die Vergleichsproben  $2\frac{1}{2}$  mal grössern Mengen beim Versuch.

### 13. Bestimmung der Ameisensäure in Fruchtsäften.

Siehe 3. Auflage. Die Methode wird gegenwärtig von Dr. Zäch überarbeitet.

#### B. Aromatische Konservierungsmittel.

[Benzoessäure, Zimmtsäure, Salicylsäure, Chlorbenzoessäure (Mikrobin-säure), p-Oxybenzoessäure und ihre Methyl-, Aethyl- und Propylester.]

### 14. Allgemeines.

Alle diese Verbindungen sind etwas flüchtig mit Wasserdampf, aber sehr wenig flüchtig mit Alkoholdampf, so dass alkoholische Flüssigkeiten, wie Wein, auf  $\frac{1}{3}$  abdestilliert werden können, ohne dass wesentliche Mengen der gesuchten Körper mit übergehen. (Verlust unter 5%.)

In Aether sind diese Verbindungen leicht löslich; sie gehen bei einmaligem Ausschütteln mit der doppelten Aethermenge nahezu quantitativ in den Aether. Ihre Isolierung erfolgt daher durch Extraktion mit Aether. Materialien, die ausgesprochen sauer sind, wie Obstsäfte, Wein, Konfitüre, brauchen dabei nicht mit Säure versetzt zu werden; nicht ausgesprochen saure Materialien wie Milch, Milchprodukte, Fleisch, Gemüsekonserven sind hingegen mit etwas verdünnter Schwefelsäure anzusäuern.

Petroläther löst diese Konservierungsmittel verschieden. Beim Ausschütteln wässriger Lösungen mit dem mehrfachen Volumen Petroläther geht p-Oxybenzoessäure, falls die Lösung nicht etwa stark essigsauer ist, auch nicht spurenweise in die obere Schicht. Die übrigen Verbindungen gehen alle in genügender Menge in die Petrolätherschicht, um darin nachgewiesen werden zu können.

Da Petroläther die aliphatischen Säuren und manche andere ätherlösliche Verunreinigungen nicht oder nur in sehr geringem Masse löst, eignet er sich besonders gut zur Reindarstellung der Konservierungsmittel. Sie hinterbleiben beim Abdampfen des Lösungsmittels stets direkt in kristallisierter Form.

Benzol löst die genannten Verbindungen einschliesslich p-Oxybenzoessäure. Es eignet sich unter Umständen zur Isolierung dieser Säure. Wo möglich werden die Konservierungsmittel nicht nur durch Farbenreaktionen nachgewiesen, sondern auch in Substanz isoliert und durch ihre Kristallform und ihren Schmelzpunkt charakterisiert.

### 15. Vorbereitung.

*Alkoholfreie Flüssigkeiten, wie Obstsäfte und Sirupe.* 25 cm<sup>3</sup> werden mit der doppelten Menge Aether ausgeschüttelt. Sollten Emulsionen entstehen, so werden sie durch Zentrifugieren getrennt. Die Aetherlösung wird mit wenig Wasser gewaschen und der Aether abdestilliert. Die letzten Spuren Aether werden hier, wie in allen Fällen nicht etwa durch



Einblasen von Luft entfernt, sondern indem man den noch warmen Kolben umkehrt und die Aetherdämpfe ausfliessen lässt.

Der Aetherrückstand wird mit Petroläther ausgezogen und der Petroläther ebenfalls abdestilliert.

*Alkoholhaltige Flüssigkeiten, wie Wein, Bier.* 25 cm<sup>3</sup> Wein werden ohne Zusatz, Bier unter Zusatz von 0,5 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1:4) auf  $\frac{1}{3}$  abdestilliert; der Rückstand wird mit der doppelten Menge Aether ausgeschüttelt und wie oben weiter behandelt.

*Essig.* 25 cm<sup>3</sup> werden auf  $\frac{1}{3}$  abdestilliert, der Rückstand mit der doppelten Menge Aether ausgezogen und der Aether abdestilliert. Der Rückstand wird nach Zusatz eines Tropfens Azolithminlösung tropfenweise bis zur alkalischen Reaktion mit n-NaOH versetzt und mit 1—2 Tropfen n-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wieder schwach angesäuert. Man schüttelt mit einigen cm<sup>3</sup> Aether aus und behandelt weiter wie oben.

*Konfitüre.* 25 g werden in einem Erlenmeyerkolben mit etwas Wasser — meist genügen 5 cm<sup>3</sup> — angerieben und im Wasserbad kurz erhitzt. Nach dem Abkühlen wird die Mischung mit der doppelten Menge Aether ausgeschüttelt und wie oben weiter behandelt.

*Milch.* 50 cm<sup>3</sup> werden mit 12 cm<sup>3</sup> Mercurisulfatlösung (Reagens nach *Denigès* auf Zitronensäure, siehe 23a) gefällt und durch ein Faltenfilter filtriert. Das Filtrat wird mit der doppelten Menge Aether vorsichtig ausgeschüttelt, wobei man seine Augen durch eine Brille schützt, und wie oben weiter behandelt.

*Butter und andere Fette.* 25 g werden geschmolzen, mit demselben Volumen heissem Wasser und mit 0,5 cm<sup>3</sup> Schwefelsäure (1:4) geschüttelt und durch ein nasses Filter filtriert. Das Filtrat wird mit der doppelten Menge Aether ausgeschüttelt, der Aether abdestilliert und der Rückstand nochmals mit 2—3 cm<sup>3</sup> heissem Wasser aufgenommen und filtriert, um noch vorhandene Spuren von Fett oder Fettsäuren zu entfernen. Das Filtrat wird wieder mit der doppelten Aethermenge ausgeschüttelt und wie oben weiter behandelt.

*Käse, Fleischpasten, Fleischkonserven, Gemüsekonserven.* Harter Käse wird zuvor geraspelt. 25 g Material werden in einer Reibschale mit 2,5 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1:4) gut verrieben, wobei man bei zu trockenen Materialien einige cm<sup>3</sup> Wasser zugeben kann. Man bringt die Masse in einen Erlenmeyerkolben, schüttelt sie mit der doppelten Menge Aether gut durch, verreibt sie dabei, wenn nötig, mit einem Glasstab, filtriert und wäscht mit 25 cm<sup>3</sup> Aether nach. Die ätherische Lösung wird destilliert und der Rückstand mit wenig Wasser versetzt und aufgekocht, um die letzten Reste von Aether sicher zu entfernen. Man filtriert durch ein nasses Filter, schüttelt das Filtrat nach dem Abkühlen wieder mit der doppelten Menge Aether aus und behandelt weiter wie oben. Bei sauren Konserven wird der Rückstand wie bei Essig angegeben von der Essigsäure befreit.

## 16. Nachweis von Benzoesäure.

Smp. 120°; hinterbleibt aus Petroläther in feinen, zu Büscheln vereinigten Nadeln, kristallisiert aus Wasser in Nadeln und Platten mit gezackten Rändern, sublimiert in glitzernden Nadeln und Tafeln.

Zum Nachweis dient die Reaktion von *Mohler*, modifiziert von *v. d. Heide* und *Jakob*<sup>5)</sup>, *Grossfeld*<sup>6)</sup> und *v. Fellenberg* und *Krauze*<sup>7)</sup>.

Der in einem Reagensglas befindliche Petrolätherrückstand wird mit 0,1 g Kaliumnitrat und 1 cm<sup>3</sup> konzentrierter Schwefelsäure 20 Minuten im siedenden Wasserbad erhitzt, abgekühlt und mit 2 cm<sup>3</sup> Wasser verdünnt. Nach nochmaligem Abkühlen setzt man 5 cm<sup>3</sup> Aether hinzu, schüttelt kräftig durch, trennt die Aetherlösung in einem kleinen Scheidetrichterchen ab, wäscht sie mit 0,5 cm<sup>3</sup> Wasser, dampft sie in einem Reagensglas auf dem Wasserbade ab, versetzt den Rückstand mit 0,25 cm<sup>3</sup> konzentriertem Ammoniak, kühlt ab, setzt ein Kriställchen (ca. 0,05 g) Hydroxylamin-Chlorhydrat zu, erhitzt genau 5 Sekunden unter Umschütteln in einem siedenden Wasserbad, kühlt ab und verdünnt mit 0,75 cm<sup>3</sup> Wasser. Eine Rotfärbung der Lösung zeigt Benzoesäure an. Bei den niedrigsten Gehalten empfiehlt sich der Vergleich mit einem Blindversuch.

Empfindlichkeit: 0,1—0,2 mg.

Die Reaktion wird durch die Gegenwart von Zimtsäure und Salicylsäure gestört (siehe 19 und 21).

*Abschätzung des Gehalts:* Die Menge der Benzoesäure lässt sich nach *J. Jones*<sup>8)</sup> durch Vergleich mit Ferrirhodanidlösungen bestimmten Gehaltes abschätzen.

Bei der hier beschriebenen Modifikation verfährt man folgendermassen:

*Erforderliche Reagentien:*

1. Ferriammonialaunlösung von 0,0864 g und 0,5 cm<sup>3</sup> n-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in 100 cm<sup>3</sup> (1 cm<sup>3</sup> = 1 mg Fe);
2. Rhodanammonlösung, 2%ig.

*Ausführung:* 1 cm<sup>3</sup> Rhodanammonlösung wird in ein Reagensglas gebracht; man gibt aus einer in 1/1000 cm<sup>3</sup> eingeteilten Pipette vorsichtig unter Umschwenken Ferrilösung hinzu, bis die Lösung in der *Durchsicht* die gleiche Farbe hat, wie die in einem gleich weiten Reagensglas befindliche Versuchslösung.

Hat man bereits 0,2 cm<sup>3</sup> Ferrilösung zugesetzt und damit noch nicht die Stärke der Versuchslösung erreicht, so verdünnt man die Versuchslösung mit weiteren 4 cm<sup>3</sup> Wasser, die Vergleichslösung mit weiteren 4 cm<sup>3</sup> Rhodanammonlösung und fährt mit dem Zusatz der Eisenlösung

<sup>5)</sup> Z. U. N. G., **19**, 137, 1910.

<sup>6)</sup> Z. U. N. G., **30**, 271, 1915; Mitt., **21**, 244, 1930.

<sup>7)</sup> Mitt., **23**, 1932.

<sup>8)</sup> *Grossfeld*, Anleitung zur Untersuchung der Lebensmittel, 1927, S. 158.

unter Verwendung einer in  $\frac{1}{100}$  cm<sup>3</sup> eingeteilten Pipette fort, bis in der *Aufsicht* Farbgleichheit erreicht.

Der Gehalt an Benzoesäure wird nach der folgenden Tabelle ermittelt:

1. Die Lösungen sind auf 1 cm<sup>3</sup> verdünnt worden; Vergleich in der *Durchsicht*:

cm <sup>3</sup> Ferrilösung	0,02	0,045	0,07	0,085	0,11	0,13	0,15	0,17	0,203	0,215
mg Benzoesäure	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0

2. Die Lösungen sind auf 5 cm<sup>3</sup> verdünnt worden; Vergleich in der *Aufsicht*:

cm <sup>3</sup> Ferrilösung	0,20	0,30	0,36	0,39	0,43	0,47	0,51	0,54	0,57	0,59
mg Benzoesäure	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Die schwache Zunahme in der Farbstärke mit steigendem Gehalt zeigt, dass die Reaktion nur bei den allergeringsten Gehalten quantitativ verläuft. Daher nimmt auch die Genauigkeit mit steigendem Gehalt an Benzoesäure stark ab.

#### 17. Bestimmung der Benzoesäure in Konfitüre.

Die Bestimmung erfolgt nach Th. v. Fellenberg, Mitt. 16, 12, 1925.

#### 18. Nachweis von Zimtsäure.

Smp. 133°; hinterbleibt aus Petroläther in monoklinen Tafeln und gekrümmten Büscheln, kristallisiert aus Wasser in gekrümmten, verzweigten, zu Büscheln vereinigten Nadeln, sublimiert in monoklinen, z. T. krummlinig begrenzten Tafeln; ist in kaltem Wasser sehr schwer löslich.

Man löst den in einem Reagensglas befindlichen Petrolätherrückstand in 1 Tropfen n-NaOH und 2—3 Tropfen Wasser, fügt in der Kälte 1 Tropfen 5%ige Permanganatlösung hinzu und säuert mit 1 Tropfen H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1:4) an. Bei Anwesenheit von Zimtsäure entwickelt sich ein Geruch nach Benzaldehyd, der sich bei kurzem Eintauchen in ein heisses Wasserbad verstärkt.

Empfindlichkeitsgrenze: 0,2 mg.

#### 19. Trennung von Benzoesäure und Zimtsäure.

Die Ausführung der Zimtsäurereaktion wird durch Benzoesäure nicht gestört, wohl aber verhindert Zimtsäure die Erkennung der Benzoesäure nach der Reaktion von *Mohler*, da sie eine ähnliche, obschon mehr bräunliche Färbung gibt, welche die Benzoesäurereaktion verdeckt.

Die Trennung beruht auf der verschiedenen Wasserlöslichkeit. 1 cm<sup>3</sup> Wasser löst 2,7 mg Benzoesäure, aber nur 0,28 mg Zimtsäure. Zimtsäure wird durch Permanganat in alkalischer Lösung in der Hitze zu Benzoesäure oxydiert, wobei aus 0,28 mg Zimtsäure 0,23 mg Benzoesäure ent-

stehen, eine Menge, die nahe an der Grenze der Erkennbarkeit liegt. Daneben vorkommende Benzoesäure gibt eine entsprechend stärkere Reaktion.

Der Petrolätherrückstand wird mit 1 cm<sup>3</sup> Wasser im Wasserbad erhitzt und abgekühlt. Die Zimtsäure scheidet sich in büschelförmigen Kristallen ab. Es bleiben nur 0,28 mg davon in Lösung. Man filtriert durch ein Filterchen von 3 cm<sup>3</sup> Durchmesser, ohne nachzuwaschen. Der ungelöste Anteil wird in Aether gelöst und nach 18. auf Zimtsäure geprüft. Das wässrige Filtrat wird mit 1 Tropfen n-NaOH und 1 Tropfen 5%igem Permanganat versetzt, aufgeköcht und nach dem Abkühlen mit 1—2 Tropfen Bisulfitlösung versetzt. Man säuert mit 1 Tropfen H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1:4) an, wobei sich die Lösung entfärben muss; andernfalls wird noch mehr Bisulfit zugefügt. Man extrahiert mit einigen cm<sup>3</sup> Aether und dampft die Aetherlösung in einem Reagensglas ab. Falls kein sichtbarer Rückstand bleibt, ist Benzoesäure ausgeschlossen. Hinterbleibt ein kristallinischer Rückstand, so wird er nach 16. auf Benzoesäure geprüft. Eine mehr als spurenweise Rotfärbung zeigt ursprünglich vorhandene Benzoesäure an, eine Reaktion von nur ungefähr 0,2 mg wird dabei vernachlässigt.

#### 20. Nachweis von Salicylsäure.

Smp. 155°; hinterbleibt aus Petroläther in feinen Nadeln, kristallisiert ebenso aus Wasser und sublimiert ebenso.

*Reagens:* Eine 0,5%ige Ferrichloridlösung, die durch Zusatz von 0,5 cm<sup>3</sup> n-HCl auf 100 cm<sup>3</sup> haltbar gemacht ist.

*Ausführung:* Einige cm<sup>3</sup> des Petrolätherauszugs werden direkt oder nach dem Abdampfen mit 0,1 cm<sup>3</sup> Reagens und 0,5—1 cm<sup>3</sup> Wasser geschüttelt. Eine Violettfärbung der wässrigen Schicht zeigt Salicylsäure an. Das ursprüngliche Material bzw. ein wässriger Auszug davon kann auch direkt mit Petroläther ausgezogen und mit dem Auszug die Reaktion vorgenommen werden. Man gibt dabei am besten zur wässrigen Lösung 10% Alkohol, insofern solcher nicht schon vorhanden ist, da Petroläther allein sehr wenig Salicylsäure auszieht. Auch ein benzolischer Auszug kann nach *Blarez*<sup>9)</sup> benützt werden, wobei der Alkoholzusatz unterbleibt. Direkte Aetherauszüge sollen nicht geprüft werden, da mit ausgezogene Begleitkörper, wie aliphatische Säuren, Gerbstoffe u. a. m. die Reaktion stören.

Empfindlichkeitsgrenze: 0,005—0,01 mg.

Salicylsäure gibt auch mit dem Gruppenreagens nach *Millon* (23a) eine Rotfärbung.

#### 21. Trennung von Benzoesäure und Salicylsäure.

Die Salicylsäurereaktion wird durch Gegenwart von Benzoesäure nicht beeinflusst. Die Salicylsäure stört hingegen die *Mohler'sche* Benzoe-

<sup>9)</sup> Ref. Z. N. L., 59, 436, 1930.

säurereaktion, da sie dabei nebst farblosen Kristallen eine intensive zitronengelbe Färbung gibt, welche die durch die Benzoesäure bewirkte Färbung verdeckt. Die Salicylsäure muss daher, wie unter 19. angegeben, durch Permanganatoxydation zerstört werden, wobei aber mehrere Tropfen n-NaOH und unter Umständen mehr Permanganat nötig sind, als dort angegeben, soviel nämlich, dass die alkalische Lösung beim Erhitzen im Wasserbad einige Minuten rot bleibt.

### 22. Nachweis von Mikrobinsäure.

(Mischung von o- und p-Chlorbenzoesäure.)

Smp. der Ortho-Verbindung 140°, der Para-Verbindung 243°; kristallisiert aus Wasser in feinen, vielfach zu Büscheln vereinigten Nadeln, sublimiert in derberen, monoklinen Prismen, ist in kaltem Wasser sehr schwer löslich; kommt auch als leicht lösliches Natriumsalz unter dem Namen Mikrobin in den Handel.

Der Nachweis der Verbindung geschieht durch ihren Chlorgehalt. Der petrolätherische Rückstand wird in einer Platinschale mit etwas chlorfreier Pottasche (z. B. 1 Tropfen gesättigter Lösung) und einem Kriställchen chlorfreiem (wenn nötig, umkristallisiertem) Salpeter vorsichtig eingedampft und einen Augenblick schwach geglüht. Man nimmt die Schmelze mit etwas Wasser auf, säuert mit Salpetersäure an und prüft mit Silbernitrat auf Chlor.

### 23. Nachweis von p-Oxybenzoesäure und ihren Estern.

Der Methylester kommt unter den Namen Nipagin M, Solbrol M, Azipan, der Aethylester als Nipagin A, Solbrol A, der Propylester als Nipasol, Solbrol P in den Handel. Die Säure schmilzt bei 210°, kristallisiert aus Wasser in derben, monoklinen, nahezu isodiametrischen Prismen und sublimiert in ähnlichen, meist kleineren Kristallen.

Der Methylester schmilzt bei 131°, hinterbleibt aus Petroläther in Nadeln, kristallisiert aus Wasser in monoklinen Tafeln, oft Zwillingen und sublimiert in Nadeln.

Der Aethylester schmilzt bei 112,5°, hinterbleibt aus Petroläther in Nadeln, kristallisiert aus Wasser in sehr regelmässigen, monoklinen Prismen, die bedeutend länger sind, als bei der Säure und sublimiert in kleinen, isodiametrischen Täfelchen oder in monoklinen Nadeln.

Der Propylester schmilzt bei 96,2°, hinterbleibt aus Petroläther in fächerartig ausgebildeten Kristallen, kristallisiert daraus gelegentlich in feinen Nadeln, aus Wasser in etwas unregelmässigen, monoklinen Prismen, sublimiert in gekrümmten Nadeln.

#### a) Gruppenreaktion mit Millons Reagens.

Nachgewiesen werden diese Verbindungen durch die *Millon'sche* Reaktion, modifiziert durch *v. Fellenberg* und *Krauze*<sup>10)</sup>.

<sup>10)</sup> Mitt., 23, 1932.

*Erforderliche Reagentien:* 1. Lösung von Merkurisulfat, hergestellt durch Erhitzen von 5 g Quecksilberoxyd mit 20 cm<sup>3</sup> (konzentrierter) Schwefelsäure und 100 cm<sup>3</sup> Wasser bis zum beginnenden Sieden, wobei eine klare Lösung entsteht (Reagens von *Denigès* auf Zitronensäure).

2. 2%ige Lösung von Natriumnitrit.

*Ausführung:* Der in einem Reagensglas befindliche Petrolätherrückstand wird mit 1 cm<sup>3</sup> Quecksilbersulfatlösung genau 2 Minuten im Wasserbad erhitzt, abgekühlt und mit 1 Tropfen Nitritlösung versetzt. Bei stärkeren Gehalten entwickelt sich sofort, bei schwächeren nach einigen Sekunden eine Rötung von der Farbe angesäuerter Methylorange-lösung, welche nach 3—5 Minuten ihr Maximum erreicht und Stunden lang bestehen bleibt. Intensitätsvergleichen dürfen erst nach 3—5 Minuten langem Stehen gemacht werden. Bei hohen Gehalten fällt ein roter Körper aus.

Salicylsäure (siehe 20) bildet eine ebensolche Färbung, die aber weniger beständig ist.

Empfindlichkeitsgrenze für p-Oxybenzoesäure ungefähr 0,005 mg, für Salicylsäure ungefähr 0,01 mg.

Auch Vanillin gibt mit dem Reagens eine Färbung und zwar eine violette. Sie erscheint früher als die genannte Rotfärbung. Bei Mischungen von Vanillin mit Salicylsäure oder p-Oxybenzoesäure oder ihren Estern entsteht im ersten Augenblick eine Violettfärbung, die aber rasch, besonders beim Eintauchen in ein heisses Wasserbad, nach rot umschlägt.

#### b) *Abtrennung des Vanillins.*

Falls der Aetherrückstand nach Vanillin riechen sollte, wird dieser Aldehyd folgendermassen entfernt:

Man dampft den Aether ab, versetzt den Rückstand mit 0,5—1 cm<sup>3</sup> frisch bereiteter, gesättigter Bisulfitlösung, lässt mindestens 10 Minuten stehen und schüttelt darauf mit ca. 5 cm<sup>3</sup> Aether aus. Wenn die ätherische Lösung nach dem Abdampfen noch eine deutliche *Millon'sche* Reaktion gibt und zwar eine Rotfärbung, so sind ausser Vanillin noch Salicylsäure oder p-Oxybenzoesäure oder ihre Ester vorhanden.

#### c) *Nachweis der p-Oxybenzoesäure.*

Diese Säure lässt sich zum Unterschied von ihren Estern und von Salicylsäure mit Petroläther nicht einmal spurenweise ausziehen. Wenn also die *Millon'sche* Reaktion im Aetherauszug auftritt, im Petrolätherauszug aber ausbleibt, so liegt p-Oxybenzoesäure vor.

Gewisse Ausgangsmaterialien, wie Rotwein, enthalten gelegentlich ätherlösliche Verunreinigungen, welche die Reaktion stören, indem sie zwar nicht eine Rotfärbung, wohl aber eine bräunliche Trübung geben. In diesem Falle wird die Aetherlösung in einem Reagensglas abgedampft,

der Rückstand mit Benzol geschüttelt und die Benzollösung mit 1—2 Tropfen 10%iger Sodalösung geschüttelt, um die Säuren zu binden. Die Benzollösung wird abgegossen, der Rückstand mit einigen  $\text{cm}^3$  Aether gewaschen, mit 2—3 Tropfen  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1:4) angesäuert und erneut mit einigen  $\text{cm}^3$  Aether ausgeschüttelt. Die Lösung, die nun auch von etwa noch vorhandenen p-Oxybenzoesäureestern vollständig befreit ist, wird erneut mit *Millon's* Reagens geprüft.

Sollte Salicylsäure vorhanden sein, so ist es möglich, dass diese durch die vorausgehende Petrolätherextraktion nicht vollständig entfernt ist und so mit p-Oxybenzoesäure verwechselt werden könnte, da sie sich nur schwer in diesem Lösungsmittel löst. In diesem Fall vergleicht man die *Millon's*che Reaktion mit der unter 20. angegebenen Eisenreaktion auf Salicylsäure, indem man die Reaktionen mit je  $0,5 \text{ cm}^3$  Aetherlösung in gleich weiten Reagensgläsern ausführt. Ist die rote *Millon's*che Reaktion eher etwas schwächer, als die violette Eisenreaktion, so ist nur Salicylsäure zugegen, ist die *Millon's*che Reaktion aber stärker, so ist auch p-Oxybenzoesäure vorhanden.

Ist die letztere Säure durch die Farbenreaktion nachgewiesen, so empfiehlt es sich, sie bezüglich Kristallform und Schmelzpunkt zu prüfen. Die Aetherlösung wird, falls sie gelblich sein sollte, mit sehr wenig Tierkohle entfärbt, sodann eingedampft, der Rückstand in ganz wenig heissem Wasser gelöst, falls die Lösung trüb sein sollte, filtriert und kristallisieren gelassen. Kristallisiert nichts aus, so bringt man einen Tropfen auf einen Objektträger, lässt ihn eindunsten und beobachtet, ob sich an den Rändern die charakteristischen Kristalle der p-Oxybenzoesäure bilden.

#### d) Trennung nach dem Verteilungskoeffizienten.

Zur Identifizierung der einzelnen Ester der p-Oxybenzoesäure und der Salicylsäure dient ihre Verteilung zwischen Petroläther und Wasser.

Man bringt auf den Boden eines Reagensglases mit eingeschliffenem Stöpsel mit einer genauen Pipette  $0,3 \text{ cm}^3$  Wasser und gibt dazu  $3 \text{ cm}^3$  der zu untersuchenden Petrolätherlösung. Man schüttelt eine Minute lang kräftig, doch so, dass der Stopfen von der Flüssigkeit nicht benetzt wird. Nach einigen Sekunden haben sich die beiden Flüssigkeiten getrennt und man giesst nun die Petrolätherschicht vorsichtig in ein Reagensglas über. Bei einiger Geschicklichkeit lässt sich dieses Abgießen bis auf den letzten Tropfen bewerkstelligen, ohne dass die wässrige Flüssigkeit mitkommt. Man gibt nun in ein anderes Reagensglas von genau demselben Durchmesser  $1 \text{ cm}^3$  der ursprünglichen Petrolätherlösung. Beide Lösungen werden im Reagensglas vorsichtig verdampft und mit den Rückständen die *Millon's*che Reaktion ausgeführt. Der einfacheren Berechnung halber setzt man  $0,95 \text{ cm}^3$  Quecksilbersulfatlösung zu, so dass man mit dem Tropfen Nitrit zusammen  $1 \text{ cm}^3$  Flüssig-

keit erhält. Sollte die Reaktion in einem Fall so stark werden, dass befürchtet werden muss, der Farbstoff könnte sich ausscheiden, so gibt man sogleich noch 1—2 cm<sup>3</sup> Quecksilbersulfatlösung hinzu.

Die Reaktionen in den beiden Gläsern werden kolorimetrisch miteinander verglichen, indem man die stärkere Lösung mit Wasser, welches man aus einer Bürette zugibt, so weit verdünnt, bis die beiden Färbungen in der Durchsicht gleich sind. Die Farbstärken bzw. die Flüssigkeitsvolumina sind den Gehalten genau proportional. Da bei der mit Wasser ausgeschüttelten Probe 3 cm<sup>3</sup> verwendet worden sind, dividiert man ihr Volumen durch 3. Man berechnet sodann das Verhältnis vor und nach der Ausschüttlung, indem man ersteres gleich 100 setzt.

Es verhalten sich vor und nach der Ausschüttlung:

p-Oxybenzoesäure-Methylester . . . . .	100 : 20
» -Aethylester . . . . .	100 : 47
» -Propylester . . . . .	100 : 72
Salicylsäure . . . . .	100 : 21
Vanillin . . . . .	100 : 27

Stimmt das gefundene Verhältnis mit einer dieser Zahlen bis auf einige % überein, so liegt die betreffende Verbindung vor. Ob es sich um Salicylsäure oder um p-Oxybenzoesäure-Methylester handelt, entscheidet der Ausfall der Salicylsäurereaktion.

*e) Nachweis der veresterten Alkohole.*

Bei Mischungen mehrerer dieser Konservierungsmittel muss der veresterte Alkohol nachgewiesen werden. Man verseift, destilliert die Alkohole ab und bestimmt ihre Summe durch Chromsäureverbrennung. Sodann prüft man auf Methyl- und auf Propylalkohol, indem man diese Alkohole zugleich kolorimetrisch bestimmt. Ist einer dieser Alkohole oder sind beide vorhanden und ihrer Menge nach abgeschätzt, und entspricht die Chromsäurereaktion einem höhern Alkoholgehalt, so ist ausserdem noch Aethylalkohol da.

Zu dieser Prüfung ist nicht der Petrolätherauszug zu verwenden, da er die Ester zu unvollständig und quantitativ verschieden auszieht, sondern ein Aetherauszug, bereitet durch einmalige Extraktion der eventuell entgeisteten Substanz mit der anderthalbfachen Menge Aether. Vanillin muss, falls es vorhanden ist, wie unter b) angegeben mit Bisulfit entfernt werden.

Man destilliert den Aether- bzw. Petrolätherauszug in einem 50 cm<sup>3</sup>-Stehkölbchen ab, setzt zum Rückstand 5 cm<sup>3</sup> Wasser und kocht zur Sicherheit kurz, um eventuelle flüchtige Substanzen, Resten von Aether oder dergleichen, sicher zu entfernen. Dann kühlt man ab, setzt 2 cm<sup>3</sup> 10%ige NaOH hinzu und kocht 5 Minuten lang am Rückflusskühler, um



die Ester zu verseifen. Sehr gut eignet sich dabei das Apparätchen von *J. Bürgi*<sup>11)</sup> zur Bestimmung der höhern Alkohole, eine Kombination von Rückflusskühler und Liebig'schem Kühler. Nach Ablauf der genannten Zeit lässt man das Wasser aus dem Rückflusskühler abfließen und destilliert ca. 4 cm<sup>3</sup> ab.

a) *Chromsäureverbrennung.*<sup>12)</sup>

Zur Chromsäureverbrennung wird 1 cm<sup>3</sup> Destillat in einem tadellos saubern Reagensglas mit einer abgemessenen Menge überschüssiger 0,2 n-Bichromatlösung versetzt. In der Regel genügt 1 cm<sup>3</sup>. Man fügt 4 cm<sup>3</sup> reine konzentrierte Schwefelsäure hinzu, schwenkt um und beobachtet die Färbung. Sollte diese ausgesprochen grün sein, so müsste sogleich noch etwas Bichromatlösung zugefügt werden. In gleicher Weise wird ein Blindversuch mit Bichromat und Schwefelsäure angesetzt. Nach Verlauf von mindestens  $\frac{1}{4}$  Stunde giesst man die Lösungen in Erlenmeyerkölbchen, spült die Reagensgläser mit Brunnenwasser nach und zwar verwendet man 20 mal mehr Wasser, als Schwefelsäure zugesetzt worden war, also 80 cm<sup>3</sup>. Die Lösung wird nun gut gekühlt und mit ca. 0,2 g Kaliumjodid versetzt und das ausgeschiedene Jod mit  $\frac{n}{10}$ -Natriumthiosulfat titriert. Gegen Schluss fügt man etwas Stärkelösung hinzu und titriert zu Ende. Nach Abzug vom Blindversuch erhält man den Chromsäureverbrauch für 1 cm<sup>3</sup> Destillat in cm<sup>3</sup>  $\frac{n}{10}$ . Es entspricht 1 cm<sup>3</sup>  $\frac{n}{10}$ -Bichromat: 0,54 mg Methylalkohol oder 1,15 mg Aethylalkohol oder 0,60 mg Propylalkohol.

β) *Methylalkoholnachweis.*<sup>13)</sup>

*Erforderliche Reagentien:*

1. Alkohol-Schwefelsäure, hergestellt durch Lösen von 10 cm<sup>3</sup> reinem, 95%igem Alkohol in ca. 60 cm<sup>3</sup> Wasser, Zusetzen von 20 cm<sup>3</sup> konzentrierter Schwefelsäure und Verdünnen auf 100 cm<sup>3</sup>;
2. Kaliumpermanganatlösung, 5 g in 100 cm<sup>3</sup>;
3. Oxalsäurelösung, 8 g in 100 cm<sup>3</sup>;
4. Reine, konzentrierte Schwefelsäure;
5. Fuchsin-schweiflige Säure, bereitet durch Lösen von 5 g Fuchsin «Merck» in 400 cm<sup>3</sup> siedendem Wasser, Verdünnen mit kaltem Wasser auf ca. 800 cm<sup>3</sup>, Zusetzen von 12 g Natriumsulfit, gelöst in ca. 60 cm<sup>3</sup> Wasser und von 100 cm<sup>3</sup> n-Schwefelsäure und Auffüllen zum Liter. Die Lösung wird nach einigen Stunden filtriert und ist dann gebrauchsfertig. Sie soll im Dunkeln aufbewahrt werden;
6. Methylalkohollösung, 0,127 cm<sup>3</sup> (= 0,1 g) Methylalkohol zu 100 cm<sup>3</sup>. 1 cm<sup>3</sup> der Lösung enthält 1 mg Methylalkohol.

<sup>11)</sup> Mitt., 23, 94, 1932.

<sup>12)</sup> Siehe *Th. v. Fellenberg*, Mitt., 18, 290, 1927.

<sup>13)</sup> Vergl. *Th. v. Fellenberg*, Mitt., 4, 135, 1913; 6, 22, 1915.

*Ausführung:* 1 cm<sup>3</sup> Destillat wird in einem Reagensglas mit 0,3 cm<sup>3</sup> Alkohol-Schwefelsäure und 0,3 cm<sup>3</sup> Permanganatlösung versetzt. Man schwenkt um und lässt genau 2 Minuten stehen. In gleicher Weise werden Typen von 0, 0,5 und 1 mg Methylalkohol behandelt, die ebenfalls mit Wasser auf 1 cm<sup>3</sup> gebracht worden sind. Nach Ablauf der 2 Minuten setzt man überall 0,3 cm<sup>3</sup> Oxalsäurelösung zu, schwenkt um, fügt 0,3 cm<sup>3</sup> konzentrierte Schwefelsäure und 1,6 cm<sup>3</sup> Fuchsin-schweiflige Säure zu, schwenkt wieder um und lässt 1/2 Stunde stehen. Nun verdünnt man alle Lösungen mit 5 cm<sup>3</sup> Wasser und vergleicht die Färbungen in einem Mikro-Kolorimeter. Die schwächsten Lösungen sind grau-grün, die stärkern blau und die stärksten violett.

Der blinde Versuch ist zur Erkennung der kleinsten Mengen erforderlich, weil auch ohne Methylalkohol eine ganz leichte Färbung entsteht. Die Färbungen sind den Gehalten nicht proportional; daher wird folgende Umrechnungstabelle benützt:

Vergleich mit Typ 1 mg:

Farbstärke	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0
mg CH <sub>3</sub> OH	0,15	0,29	0,42	0,55	0,67	0,77	0,83	0,89	0,95	1,00

Vergleich mit Typ 0,5 mg:

Farbstärke	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2	1,3	1,35
mg CH <sub>3</sub> OH	0,07	0,24	0,34	0,42	0,50	0,63	0,71	0,77	0,81	0,86	0,90	0,94	0,97	1,00

Weichen die Färbungen von der Typlösung stark ab, so ist es für genaue Bestimmungen zu empfehlen, den Versuch zu wiederholen, indem man entweder die Vergleichslösung oder das Destillat derart verdünnt, dass man möglichst gleiche Färbungen erhält. Auch bei Gehalten von über 1 mg wird das Destillat entsprechend verdünnt.

Da p-Oxybenzoesäure-Methylester 20% Methylalkohol enthält, ergibt sich der Gehalt an Ester durch Multiplikation mit 5.

#### γ) Propylalkoholnachweis.<sup>14)</sup>

##### *Erforderliche Reagentien:*

1. Eine Lösung von 0,2 g reinem (eventuell umkristallisiertem oder über die Bisulfitverbindung gereinigtem) p-Oxybenzaldehyd in 100 cm<sup>3</sup> reinstem, aus Weinsprit (nicht Feinsprit) hergestelltem 50%igem Alkohol.

2. Eine wässrige Propylalkohollösung, hergestellt durch Verdünnen von 0,25 cm<sup>3</sup> (= 0,2 g) Propylalkohol «Merck» auf 100 cm<sup>3</sup>. 0,5 cm<sup>3</sup> der Lösung entspricht 1 mg Propylalkohol.

*Ausführung:* 0,5 cm<sup>3</sup> Destillat, 0,5 cm<sup>3</sup> Propylalkohollösung und 0,5 cm<sup>3</sup> destilliertes Wasser werden in Reagensgläsern mit je 0,25 cm<sup>3</sup> p-Oxybenzaldehydlösung versetzt und mit 1 cm<sup>3</sup> reiner, konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet. Man schwenkt um und stellt die Reagens-

<sup>14)</sup> Vergl. Th. v. Fellenberg, Mitt., 20, 28, 1929.

gläser in ein siedendes Wasserbad. Nach 20 Minuten wird abgekühlt. Die Färbungen werden in einem Mikrokolorimeter verglichen und danach der Gehalt berechnet.

Der Vergleich mit dem blinden Versuch zeigt, ob überhaupt Propylalkohol zugegen ist. Der blinde Versuch gibt zwar bei reinen Ausgangsmaterialien keine merkbare Rötung, im Kolorimeter absorbiert er aber doch in hoher Schicht etwas Licht. Die Gehalte sind daher den Farbstärken nicht ganz proportional und erst von 0,4 mg an genau; sie werden nach folgender Tabelle berechnet:

		Vergleich mit Typ 1 mg:										
Farbstärke .		0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0
mg C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> OH		0	0,18	0,33	0,43	0,48	0,57	0,66	0,75	0,84	0,93	1,00

Für genaue Bestimmungen ist es zu empfehlen, den Versuch zu wiederholen, indem man bei niedrigeren Gehalten die Vergleichslösung, bei höhern das Destillat derart verdünnt, dass man möglichst gleiche Färbungen zu erwarten hat.

Da p-Oxybenzoesäure-Propylester 30% Propylalkohol enthält, ergibt sich der Gehalt an Ester durch Multiplikation des Alkohols mit 3,33.

#### *δ) Aethylalkoholnachweis.*

Für den Nachweis von Aethylalkohol fehlt eine genügend empfindliche, charakteristische Reaktion.

Handelt es sich nur darum, die Gegenwart eines einzigen p-Oxybenzaldehydesters neben Salicylsäure nachzuweisen, so genügt die Chromsäureverbrennung; soll der Nachweis von Methyl- oder von Propylester, die nach der Petroläther-Wasserausschüttlung festgestellt worden sind, erhärtet werden, so genügt der qualitative Nachweis der betreffenden Alkohole. Schliesst man aber nach der Ausschüttlung auf eine Mischung mehrerer Ester, so lässt sich die Gegenwart oder das Fehlen des Aethyl-esters nur so nachweisen, dass die Methyl- und Propylalkoholbestimmung quantitativ ausgeführt und der entsprechende Wert vom Chromsäureverbrauch abgezogen wird. Der eventuelle Ueberschuss an oxydierbarer Substanz entspricht dann dem Aethylalkohol.

### *24. Nachweis und Trennung der aromatischen Konservierungsmittel in einem Analysengang.*

a) Die nach der Vorbehandlung 15. erhaltene Aetherlösung wird abdestilliert. Sollte der Rückstand nach Vanillin riechen, so wird dieses nach 23. b) abgetrennt. Die darauf erhaltene Aetherlösung wird wieder abdestilliert, der Rückstand mit einigen Tropfen Wasser befeuchtet und wiederholt (bis 6 mal) mit je 10 cm<sup>3</sup> Petroläther ausgeschüttelt, bis kaum mehr etwas gelöst wird. Sollte beim Mischen der einzelnen Petrol-

ätherfraktionen ein Körper auskristallisieren, so wird dieser besonders untersucht.

b) Der in Petroläther unlösliche Rückstand wird nach 23. c) auf p-Oxybenzoesäure geprüft.

c) Die Petrolätherlösung kann alle übrigen Konservierungsmittel dieser Gruppe enthalten. Hinterlässt sie keinen Rückstand, so sind sie alle abwesend; hinterbleibt ein Rückstand, so wird er wieder in Petroläther gelöst und die Lösung weiter untersucht. 1 cm<sup>3</sup> der Lösung wird nach 20. auf Salicylsäure geprüft. Ist Salicylsäure vorhanden, so wird ein weiterer cm<sup>3</sup> nach 23. a) mit *Millon's* Reagens geprüft und die Intensität der Färbung mit Salicylsäurereaktion verglichen, wobei man nach Bedarf die beiden Lösungen mit derselben Menge Wasser verdünnt. Ist die *Millon's*che Reaktion eher etwas schwächer, als die Salicylsäurereaktion, so sind Ester der p-Oxybenzoesäure abwesend; ist die *Millon's*che Reaktion aber stärker, so sind solche Ester vorhanden.

d) Bei Abwesenheit von Salicylsäure wird ebenfalls mit *Millon's* Reagens auf die Ester geprüft. Wenn die Probe negativ ausfällt, ebenso, wenn sie nach c) negativ ausgefallen ist, wird die Petrolätherlösung abdestilliert. Hinterbleibt ein Rückstand, so wird dieser nach g) auf Benzoesäure, Zimtsäure und Mikrobinsäure geprüft. Hinterbleibt kein Rückstand, so sind diese Säuren abwesend; die Untersuchung ist dann beendigt.

e) Sind Ester der p-Oxybenzoesäure anwesend, Salicylsäure aber abwesend, so wird nach 23. d) geprüft, um welche Ester es sich handelt. Deutet die Verteilung zwischen Petroläther und Wasser auf mehrere Ester hin, so werden diese nach Abtrennung der Säuren (siehe f) (nach 23. e) auf die veresterten Alkohole geprüft.

f) Sind Ester der p-Oxybenzoesäure neben Salicylsäure da, so werden diese folgendermassen von den anwesenden Säuren getrennt:

Die Petrolätherlösung wird abdestilliert, der Rückstand mit Aether aufgenommen und in einem Kolben mit wenigen Tropfen 10%iger Sodalösung geschüttelt, wobei die Säuren in die Sodalösung gehen. Die Aetherlösung, welche die Ester enthält, wird abgedampft, der Rückstand wieder mit Petroläther aufgenommen und nach 23. d) bzw. 23. e) geprüft.

g) Die Sodalösung, welche die Säuren enthält, wird mit einigen Tropfen Schwefelsäure (1:4) angesäuert und mit einigen cm<sup>3</sup> Aether extrahiert und der Aether verdampft. Ist überhaupt kein Rückstand vorhanden, so sind Benzoesäure, Zimtsäure und Mikrobinsäure abwesend (siehe d). Ist ein Rückstand vorhanden, so beobachtet man ihn unter dem Mikroskop und kann in gewissen Fällen aus der Kristallform wichtige Schlüsse ziehen.

Man löst nun den Rückstand in 1 cm<sup>3</sup> Wasser unter Erwärmen und kühlt ab. Kristallisiert nichts aus, so sind Zimtsäure und Mikrobinsäure abwesend. Man prüft dann die Lösung, nachdem man sie wieder mit Aether ausgezogen und den Aether in einem Reagensglas abgedampft hat, nach 16. oder bei Anwesenheit von Salicylsäure nach 21. auf Benzoessäure.

Ist beim Abkühlen ein Niederschlag entstanden, so wird dieser unter dem Mikroskop betrachtet. Feine Nadelchen deuten auf Mikrobinsäure hin. Man filtriert nun durch ein Filterchen von 3 cm<sup>3</sup> Durchmesser. Der Rückstand wird in Aether gelöst und ein Teil davon nach 18. auf Zimtsäure, ein weiterer Teil nach 22. auf Mikrobinsäure geprüft. Das wässrige Filtrat wird mit Aether ausgezogen und, falls beim Abdampfen ein Rückstand hinterbleibt, nach 16., bzw. nach 19. oder 21. auf Benzoessäure geprüft.

### Erläuterungen.

*Nachweis von Borsäure.* Um die Reaktion möglichst empfindlich zu gestalten, vermeiden wir grössere Flüssigkeitsmengen. Da die Reaktion mit Reagenspapier ausgeführt wird, brauchen wir nicht mehr, als einige Tropfen der endgültigen Lösung. Wir kommen daher mit sehr wenig Ausgangsmaterial aus.

*Nachweis von Fluorwasserstoffsäure.* Wir versuchten ausser der Methode von *Kulisch-Kreis*, die in der 3. Auflage des Lebensmittelbuches steht, u. A. die von *Vandam* verbesserte Methode von *Blarez*<sup>15)</sup>, welche darin besteht, dass im Wein ein Niederschlag von Bariumsulfat erzeugt wird, welcher das Fluor mitreissen soll. Mit dem Niederschlag wird dann die Aetzprobe ausgeführt.

Wir erhielten weniger gute Resultate, als nach *Kulisch*. Bariumfluorid selber ist ja bekanntlich recht leicht löslich; nach dem Chemiker Kalender lösen sich bei 9,5° 0,16 g in 100 cm<sup>3</sup>. Es könnte sich also bei der Methode nur um eine Adsorption des Bariumfluorids an das Bariumsulfat handeln. Es scheint uns, dass die Bedingungen zu dieser Adsorption nicht so leicht zu treffen sind. Wir bleiben daher vorläufig bei der Methode der 3. Auflage, wobei acht zu geben ist auf eine vorsichtige Veraschung. Bei blinden Versuchen und ebenso bei Milch gelang es uns, noch 1 mg Fluor in 100 cm<sup>3</sup> Flüssigkeit durch die Aetzprobe nachzuweisen; bei Wein kamen wir aber nicht unter 5 mg herunter.

*Nachweis von Ameisensäure.* Durch Anwendung der Aetherextraktion haben wir den Nachweis einfacher und sicherer gestaltet, als dies durch direkte Destillation zu erreichen ist. Wir erhalten so nur einige cm<sup>3</sup> wässrige Flüssigkeit, entsprechend der Laugenmenge, die wir zum Ausschütteln der Aetherlösung benötigen. Die Destillation dieser kleinen

<sup>15)</sup> Ref. Z. U. N. G., 16, 617, 1908; *Kickton* u. *Behnke*, Z. U. N. G., 20, 193, 1910.

Menge nach dem Ansäuern erfolgt sehr rasch und der Nachweis ist sehr empfindlich. Wir haben bei diesem Arbeitsgang keinerlei Bildung von Ameisensäure zu befürchten, wie dies bei der Destillation der Fall ist. Ohne grosse Mühe kann die Menge der Ameisensäure abgeschätzt werden.

*Nachweis von Benzoesäure.* Die *Mohler'sche* Reaktion in der Modifikation von *von der Heide* und *Jakob* und von *Grossfeld* geschieht nach Zusatz der vorgeschriebenen Reagentien in etwa 15 cm<sup>3</sup> Flüssigkeit; während dies für höhere Gehalte gut angeht, so sind doch die kleinsten Mengen bei dieser Verdünnung nicht mehr deutlich wahrnehmbar. Wir haben die Reaktion dadurch bedeutend empfindlicher gemacht, dass wir die Dinitrobenzoesäure mit Aether ausschütteln, den Aetherrückstand in ganz wenig Ammoniak lösen und dann zur Amidoverbindung reduzieren. Wir erhalten die gesamte Diamidobenzoesäure so statt in 15 cm<sup>3</sup> in nur 0,25 bzw. 1 cm<sup>3</sup> Flüssigkeit, wodurch die Reaktion entsprechend empfindlicher wird.

*Nachweis von Zimtsäure.* Nach der 3. Auflage des Lebensmittelbuchs wird die Geruchsprobe in der alkalischen Lösung vorgenommen. Die Reaktion wird aber viel empfindlicher, wenn man ansäuert, wie wir es hier tun. Noch mehr wird sie gesteigert durch die angegebene kurze Erhitzung.

*Trennung von Benzoesäure und Zimtsäure.* Der Nachweis von Benzoesäure neben Zimtsäure wird dadurch erschwert, dass die Zimtsäure ja durch die Permanganatoxydation ebenfalls in Benzoesäure übergeht. Indem wir aber die Schwerlöslichkeit der Zimtsäure in Wasser zur Trennung benützen, bleibt uns nur eine kleine, stets konstante Menge, davon in Lösung, so dass wir aus der Reaktionsstärke ohne weiteres ersehen können, ob es sich um wirklich vorhandene oder um aus Zimtsäure entstandene Benzoesäure handelt.

*Nachweis von Mikrobinsäure.* Zum Nachweis des Chlors haben wir zuerst die Verbrennung mit Natriumsuperoxyd nach *von der Heide* und *Fölln*<sup>16)</sup> angewendet. Einfacher und angenehmer ist aber die hier angegebene Methode, die Verbrennung mit Pottasche und etwas Salpeter. Sie eignet sich auch zur quantitativen Bestimmung. Wir erhielten folgende Zahlen, indem wir das Chlor nach der Zerstörung der organischen Substanz nach *Volhard* titrieren:

Angewendete Mikrobinsäure mg	Gefunden	
	nach v. d. Heide u. Fölln	nach unserm Verfahren
40	34,09	—
20	19,45	20,3
20	12,13	19,45
20	19,45	—

<sup>16)</sup> Z. U. L., 53, 489, 1927.

*Millons Reagens.* Nach *Abderhalden*<sup>17)</sup> wird die *Hoffmann'sche* Probe, bekannt unter dem Namen *Millon'sche* Reaktion, von allen Benzolderivaten gegeben, welche ein Wasserstoff durch eine Hydroxylgruppe ersetzt haben. Sie wird somit von Vanillin, Salicylsäure, p-Oxybenzoesäure und ihren Estern gegeben und ist zum Nachweis dieser Verbindungen bereits von *Weiss*<sup>18)</sup> angewendet worden. Das Reagens wird nach *Beythien*<sup>19)</sup>, bereitet durch Lösen von 1 Teil Quecksilber in 1 Teil kalter, rauchender Salpetersäure und Verdünnen mit 1—2 Teilen Wasser.

*Lintner*<sup>20)</sup> hat zum Nachweis der Salicylsäure eine Modifikation der *Millon'schen* Reaktion angegeben, welche darin besteht, dass er die Substanz zuerst mit einigen Tropfen einer 10%igen Merkurinitratlösung 2 Minuten kocht, dann 2—3 Tropfen verdünnter Schwefelsäure zufügt und tropfenweise mit Natriumnitritlösung versetzt.

Zum Nachweis von Vanillin gibt *Nickel*<sup>21)</sup> kaliumnitrithaltige Quecksilberchloridlösung an. *Kreis* und *Studinger*<sup>22)</sup> haben die Vorschrift genauer präzisiert, nachdem sie die geeigneten Mengenverhältnisse ausprobiert hatten. Das Reagens muss im Gegensatz zum *Millon'schen* Reagens schwach alkalisch sein.

Das *Millon'sche* Reagens hat uns zum Nachweis der in Betracht fallenden Konservierungsmittel durchaus nicht befriedigt. Mit Vanillin erhält man bei kurzem Eintauchen in ein heisses Wasserbad wohl eine schöne Violettfärbung; sie ist aber sehr unbeständig und geht rasch in Violetrot und weiter in ein trübes, uncharakteristisches Braun über. Trotz grosser Vorsicht kann die höchstens einige Sekunden dauernde richtige Erhitzungsdauer überschritten werden. Ein Abschätzen der Menge ist unmöglich.

Mit Salicylsäure entsteht eine bräunlich rote Färbung, die leicht trüb wird. Eine schöne, rein rote Färbung gibt p-Oxybenzoesäure; sie ist beim Erhitzen beständiger, ist aber nicht so stark, wie mit unserm Reagens und wird leicht trüb.

Die *Lintner'sche* Arbeitsweise liefert bei Vanillin eine ähnlich schöne Violettfärbung, wie unser Reagens. Salicylsäure gibt eine sehr schwache, trübe Rotfärbung; p-Oxybenzoesäure liefert reine rote Färbungen, die aber bedeutend schwächer sind, als mit unserm Reagens. Wird dann die Flüssigkeit nachträglich im Wasserbad erhitzt, so nimmt die Färbung bis zum Maximum zu, gleich nachher findet aber in gewissen Fällen

<sup>17)</sup> Lehrb. der physiolog. Chemie.

<sup>18)</sup> *F. Weiss*, Z. U. L., 55, 24, 1928; 59, 472, 1930.

<sup>19)</sup> Laboratoriumsbuch für den Nahrungsmittelchemiker, Verlag Th. Steinkopff, Dresden und Leipzig 1931.

<sup>20)</sup> Zeitschr. f. angew. Chem., 13, 707, 1900; *Rosenthaler*, Der Nachweis organischer Verbindungen, Verlag Ferd. Enke, Stuttgart 1914.

<sup>21)</sup> Die Farbenreaktionen der Kohlenstoffverbindungen.

<sup>22)</sup> Mitt., 18, 333, 1927; 19, 59, 1928.

eine Ausscheidung des Reagensproduktes statt, ein Zeichen, dass die Reagensmenge (einige Tropfen nach *Lintner*) ungenügend war.

Die *Nickel'sche* Reaktion in der Arbeitsweise von *Kreis* und *Studinger* gibt mit Vanillin reine, weinrote Färbungen, die ungefähr gleich stark sind, wie die Violettfärbung nach *Lintner* oder nach unserer Arbeitsweise. Salicylsäure gibt erst nach längerer Zeit eine leichte Braunfärbung; p-Oxybenzoesäure gibt beim Erhitzen schon bald eine Gelbfärbung, die nach einiger Zeit in Braun übergeht. Ein Nachteil dieser Reaktion besteht darin, dass das Reagens nur wenige Tage haltbar ist.

Unsere Arbeitsweise hat das mit der *Lintner'schen* gemein, dass das Nitrit erst zum Schluss zugefügt wird und zwar setzen wir es zu der abgekühlten Lösung. Statt Quecksilbernitrat verwenden wir das Sulfat in Gegenwart von überschüssiger Schwefelsäure. Wir sind ohne Kenntnis der *Lintner'schen* Vorschrift zu dieser Arbeitsmethode geführt worden, nachdem wir zur Ueberzeugung gekommen waren, dass sowohl Salpetersäure, wie salpetrige Säure die Reaktionen in der Hitze ungünstig beeinflussen. Wir probierten dann verschiedene Quecksilbersalze, Nitrat, Chlorid, Sulfat ohne und mit Säurezusatz durch, indem wir jeweilen die salpetrige Säure in Form von Nitrit erst nachträglich zugaben.

Ohne Säurezusatz reagierte keins dieser Salze, mit Säurezusatz erhielt man mit Nitrat und Sulfat, nicht aber mit Chlorid Färbungen. Wie *Kreis* und *Studinger* angeben, muss ja das Chlorid etwas alkalisch reagieren, um die Reaktion nach *Nickel* zu geben.

Am besten bewährte sich schliesslich eine saure Quecksilbersulfatlösung in der Form des Reagens auf Zitronensäure nach *Denigès*, wobei die Substanz zuerst mit dem Reagens erhitzt werden muss; dann wird abgekühlt und Nitrit zugesetzt. Das Erhitzen erfolgt im siedenden Wasserbad während 2 Minuten. Eine kürzere Zeitdauer genügt nicht, um das Maximum der Intensität zu erreichen; ein längeres Erhitzen ist unnötig, da es die Reaktion nicht merkbar steigert.

Die Entwicklung der Reaktion nach Zusatz des Nitrits erfolgt nicht plötzlich; die Färbung beginnt in der Regel nach einigen Sekunden sichtbar zu werden und nimmt während 3—5 Minuten zu. Am raschesten erscheint sie bei Vanillin. Der Vorgang kann beschleunigt werden durch kurzes Eintauchen in das heisse Wasserbad. Für quantitative Bestimmungen ist dies Erwärmen jedoch zu unterlassen, weil dabei leicht das Optimum überschritten wird und die Reaktion dann wieder abblasst.

Vanillin gibt eine reine, klare, violette Färbung, die längere Zeit bestehen bleibt. Mit p-Oxybenzoesäure erhält man sehr beständige, klare Reaktionen von der Farbe angesäuerter Methylorangelösung; mit Salicylsäure sind sie ebenfalls ganz klar und rein, aber ein wenig gelbstichiger und weniger beständig. Beim Erhitzen verschwindet die Vanillinfärbung am raschesten die durch p-Oxybenzoesäure bewirkte ist am beständigsten.



Das raschere Erscheinen der Vanillinfärbung ermöglicht, diese Verbindung neben den beiden andern festzustellen. Man erhält nach dem Nitritzusatz zuerst eine Violettfärbung, die aber innert  $\frac{1}{4}$  oder  $\frac{1}{2}$  Minute allmählich nach rot umschlägt.

Der Vorteil unserer Arbeitsmethode liegt darin, dass wir in allen Fällen reine Färbungen ohne irgend einen bräunlichen Nebenton bekommen, die den Gehalten gut entsprechen und mit Wasser beliebig verdünnt werden können. Von p-Oxybenzoesäure wurden Mengen von 0,005 bis 2 mg in Reaktion gebracht und nach entsprechender Verdünnung miteinander verglichen. Man erhielt stets die dem Gehalt entsprechende Farbstärke. Bei Salicylsäure erhielt man bei den niedrigeren Gehalten verhältnismässig etwas zu schwache Färbungen, was sich durch die etwas geringere Beständigkeit des Reaktionsproduktes erklärt. p-Oxybenzoesäure gibt 3 mal stärkere Färbungen, als Salicylsäure.

Die genaue Proportionalität zwischen Gehalt und Farbstärke bei der p-Oxybenzoesäure, die selbstverständlich auch für die Ester gilt, ermöglicht die Bestimmung der Verteilungskoeffizienten und somit der Trennung der einzelnen Ester voneinander.

Manche Autoren geben zur Isolierung von Konservierungsmitteln recht umständliche Methoden an. So wird bei Wein oft vorgeschlagen, ihn zuerst zu neutralisieren, darauf zu entgeisten, wieder ansäuern und mit einem geeigneten Lösungsmittel zu extrahieren. Die Neutralisation geschieht, um Verluste wegen der Flüchtigkeit der Verbindungen zu vermeiden. Nun sind aber die aromatischen Konservierungsmittel durchaus nicht leicht flüchtig mit Alkoholdämpfen, viel weniger als mit Wasserdampf, wie aus folgenden Versuchen hervorgeht:

Je 20 mg Salicylsäure, p-Oxybenzoesäure und ihre Methyl-, Aethyl- und Propylester wurden mit 50 cm<sup>3</sup> 10%igem Alkohol destilliert, wobei man 4 Fraktionen von je 20% auffing. Mit den einzelnen Fraktionen wurde die *Millon'sche* Reaktion in der von uns ausgearbeiteten Ausführung vorgenommen und die Färbungen miteinander verglichen. Die Zahlen machen nicht Anspruch auf grösste Genauigkeit, weil wir damals die Reaktion noch nicht ganz beherrschten; die Genauigkeit genügt aber vollständig für unsern Zweck. Man fand folgende Intensitäten bei den einzelnen Fraktionen, verglichen mit der Intensität des Destillationsrückstandes:

	1.	2.	3.	4.	Rückstand
Salicylsäure . . . .	1	1	1,3	5	100
p-Oxybenzoesäure . .	0	0	0	0	100
Methylester . . . .	1,5	0,4	0,6	1,3	100
Aethylester . . . .	0,4	1,6	2,0	5,0	100
Propylester . . . .	1,8	1,8	2,2	5,5	100

Ausser beim Methylester, wo vielleicht ein kleiner Irrtum vorliegt, finden wir in den ersten, also alkoholreichsten Fraktionen am wenigsten, mit sinkendem Alkoholgehalt aber mehr und mehr. Wenn man  $\frac{2}{3}$  des Volumens abdestilliert, womit erfahrungsgemäss der Alkohol beseitigt ist, verliert man beim Aethylester 3%, beim Propylester 7%. Von der p-Oxybenzoesäure ist überhaupt nichts übergegangen, bei den übrigen beiden Verbindungen liegen die Verluste zwischen 3 und 7%.

Bei der Benzoesäure, die als besonders flüchtig gilt, hat der Eine von uns<sup>23)</sup> festgestellt, dass bei der Dampfdestillation von 20 g Konfitüre mit den ersten 200 cm<sup>3</sup> Wasser erst die Hälfte übergeht.

Es geht aus diesen Versuchen hervor, dass die alkalische Destillation oder gar noch eine Verseifung der Ester vor dem Entgeisten alkoholischer Flüssigkeiten unnötig ist, wo es sich nicht um die Bestimmung, sondern nur um den Nachweis der aromatischen Konservierungsmittel handelt.

Diese Konservierungsmittel lassen sich auch alle sehr leicht mit Aether aus ihren wässrigen Lösungen ausschütteln. Die oben erhaltenen Destillationsrückstände wurden 2 mal mit derselben Menge Aether ausgeschüttelt und die beiden Auszüge miteinander kolorimetrisch verglichen. Die 1. Extraktion = 100 gesetzt, fanden wir in der 2. Extraktion noch folgende Mengen Konservierungsmittel:

Salicylsäure 1,3, p-Oxybenzoesäure 5, Methylester 3, Aethylester 3, Propylester 1. Wie früher (l. c.) festgestellt wurde, gehen von der Benzoesäure 97,5% in die 1., 2,6% in die 2. und 0,36% in die 3. Fraktion.

Es ist somit für qualitative Zwecke unnötig, etwa stundenlang zu perforieren; eine einmalige Ausschüttlung mit Aether genügt vollständig und auch für quantitative Zwecke ist eine 3—6 malige Extraktion vollständig genügend und bedeutend einfacher und rascher ausführbar, als die Perforation, die wir aus diesem Grunde nicht empfehlen.

Es wird meistens empfohlen, die Lösungen zur Aetherextraktion mit einer Mineralsäure anzusäuern, falls saure Konservierungsmittel zu extrahieren sind. Falls es sich um saure Lebensmittel, wie Wein, Konfitüre etc. handelt, ist dieses Ansäuern zum qualitativen Nachweis unnötig; unbedingt notwendig ist es aber bei Lebensmitteln mit nahezu neutraler Reaktion, wie Milch, Käse, Fleisch etc., besonders im Hinblick darauf, dass die Konservierungsmittel als Natriumsalze angewendet werden können.

Bedeutend schwerer, als in Aether sind diese Konservierungsmittel in Petroläther löslich. Die Ueberführung in Petroläther hat aber den ausserordentlichen Vorteil, diese Verbindungen in allen Fällen gleich sehr rein zu isolieren, so dass beim Abdampfen ohne weiteres Kristalle hinterbleiben und dass die Farbenreaktionen vollständig rein ausfallen. Es ist beispielsweise auch nicht nötig, zum Nachweis der Benzoesäure

<sup>23)</sup> *Th. v. Fellenberg, Mitt., 16, 8, 1925.*

nach *Mohler* eine Permanganatoxydation vorzunehmen, ausser, wenn es sich darum handelt, andere störende Konservierungsmittel, wie Salicylsäure oder Zimtsäure zu zerstören. Da nun die direkte Petrolätherextraktion eine zu geringe Menge der Konservierungsmittel extrahieren würde, ziehen wir erst den Aetherextraktionsrückstand mit diesem Mittel aus.

Benzol extrahiert besser als Petroläther; es hat aber den Nachteil, schwer zu verdampfen. Wir wenden es daher nur in gewissen Fällen an, so zur Isolierung der p-Oxybenzoesäure oder auch zum direkten Nachweis von Salicylsäure mittels der Eisenreaktion, beides Fälle, wo ein Abdestillieren des Lösungsmittels nicht notwendig ist.

Beim Ausschütteln der p-Oxybenzoesäure mit Sodalösung werden nur 1—2 Tropfen dieser Lösung genommen, da auch die Ester die Tendenz haben, aus der Benzollösung in Wasser, also auch in Sodalösung zu wandern.

Gewisse Autoren schreiben vor, Aether- oder Petrolätherlösungen, in welchen auf Konservierungsmittel zu prüfen ist, nicht abzukochen, sondern bei gewöhnlicher Temperatur verdunsten zu lassen. Wir halten dies für eine ganz unnötige Komplikation. Allenfalls mag diese Vorsichtsregel da am Platze sein, wo das Lösungsmittel in einem Uhrglas verdampft wird. Wir verdampfen aber stets in Reagensgläsern und da treten keine merkbaren Verluste im Wasserbad ein, wenn man das Erhitzen unterbricht, sobald das Lösungsmittel verdampft ist. Wichtig ist immerhin, dass man die letzten Reste des Lösungsmittels nicht etwa durch Lufteinblasen entfernt. Wir gehen so vor, dass wir das Reagensglas oder das Destillationskölbchen einfach umkehren und die Dämpfe ausfliessen lassen.

Zur Vorbereitung von Lebensmitteln zwecks Isolierung der Konservierungsmittel verwendet *F. Weiss*<sup>24)</sup> die Klärflüssigkeiten nach *Carrez*<sup>25)</sup>, bestehend aus einer Ferrocyankaliumlösung und einer Zinksulfatlösung. Wir nahmen damit einige Versuche bei Wein vor und konstatierten, dass der Aetherauszug wirklich reiner wird, als ohne diese Reagentien. Da wir aber nachher doch die Reinigung mit Petroläther vornehmen müssen, bedeutet dies Verfahren für unsern Analysengang eine unnötige Komplikation und wir sind davon abgekommen. Ebenso versuchten wir, Milch nach diesem Verfahren von Eiweiss zu befreien, konstatierten aber dabei, dass grosse Verluste an Konservierungsmittel durch Adsorption an das ausgefällte Eiweisskoagulum eintreten. Wir nehmen daher die Enteiweissung mit der sauren Quecksilbersulfatlösung vor, die uns zur Ausführung der *Millon'schen* Reaktion dient. Wir kamen darauf in

<sup>24)</sup> Z. U. L., 55, 24, 1928.

<sup>25)</sup> Z. U. L., 59, 111, 1920.

Anlehnung an die  $\text{HgCl}_2$ -HCl-Lösung von *Ambühl* und *H. Weiss*<sup>26)</sup> zur Bereitung von Milchserum. Für unsere Zwecke ist das Quecksilbersulfat dem Chlorid vorzuziehen, da Salzsäure ziemlich beträchtlich vom Aether aufgenommen wird.

*Propylalkoholnachweis.* Der Nachweis geschieht im Prinzip auf gleiche Weise, wie die Bestimmung der höhern Alkohole nach der Methode des *Einen von uns*<sup>27)</sup>; jedoch wird hier eine bedeutend verdünntere Lösung von p-Oxybenzaldehyd als Reagens verwendet und die Reaktionsdauer auf 20 Minuten ausgedehnt, da es sich darum handelt, denjenigen der höhern Alkohole, welcher am schwächsten reagiert, noch in möglichst grosser Verdünnung nachzuweisen und eventuell zu bestimmen.

Wir wandten zur Erkennung des veresterten Aethyl- und Propylalkohols auch die Mikrobechermethode von *Griebel* und *F. Weiss*<sup>28)</sup> an, welche auf dem Nachweis der bei der Oxydation mit Chromsäure entstandenen Ester mit p-Nitrophenylhydrazin beruht. Einfacher, als die Anwendung der Mikrobecher ist es, die Reaktionen in einem Reagensglas auszuführen, in welches ein Sublimationskühler nach *Th. v. Fellenberg*<sup>29)</sup> eingehängt ist, an dessen Ende sich ein Tröpfchen Reagens befindet. Bei leichtem Erwärmen destilliert dann eine Spur des entstandenen Aldehyds an den Kühler und bewirkt die Bildung der Kristalle. Die Reaktion ist aber zur Unterscheidung der beiden Alkohole ohne besondere Erfahrung nicht geeignet; die Kristalle sind zu ähnlich. Wir haben deshalb die Methode nicht unter die Vorschläge aufgenommen.

*Weiss* verseift die p-Oxybenzoesäureester zum Nachweis der Alkohole mit 10%iger Natronlauge während einer Stunde. Wir haben festgestellt, dass die Reaktion in 5 Minuten beendet ist.

Wir haben durch Herrn *Ruffy* gegen 20 Materialproben, hauptsächlich Weine, da diese etwas grössere Schwierigkeiten bieten, als die übrigen Lebensmittel, mit aromatischen Konservierungsmitteln in beliebiger Mischung versetzen lassen und analysiert. In weitaus den meisten Fällen fanden wir die zugesetzten Verbindungen genau wieder. Anfangs kamen allerdings einige Fehler vor, welche uns Anlass gaben, die Trennungsmethoden entsprechend zu verbessern.

<sup>26)</sup> Mitt., 10, 55, 1919.

<sup>27)</sup> Mitt., 20, 28, 1928.

<sup>28)</sup> Z. U. L., 56, 160, 1928; *Weiss*, 59, 474, 1930.

<sup>29)</sup> Mitt., 23, 97, 1932.