

# Zur Methodik der Mikrostickstoffbestimmung : mit besonderer Berücksichtigung der Nahrungs- und Genussmittel

Autor(en): **Iselin, E. / Viollier, R.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **24 (1933)**

Heft 4-5

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983843>

## **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.

## Zur Methodik der Mikrostickstoffbestimmung mit besonderer Berücksichtigung der Nahrungs- und Genussmittel.

Von Dr. E. ISELIN.

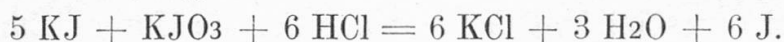
(Mitteilung aus dem Laboratorium des Kantonschemikers Basel,  
Vorstand: Dr. R. Viollier.)

Die Mikromethoden wurden bisher in der physiologischen und medizinischen Chemie mit Erfolg angewendet. Hier sei in erster Linie die Mikrokjeldahlmethode nach Jvar Bang (Mikromethoden zur Blutuntersuchung, Verlag Bergmann) genannt, welche die Bestimmung sämtlicher stickstoffhaltiger Bestandteile des Blutes ermöglicht. Besonders die Bestimmung des «Reststickstoffes», d. h. desjenigen Stickstoffes, welcher nach vollständiger Entfernung der koagulierbaren Proteinstoffe noch in der filtrierten Lösung zurückbleibt (in erster Linie Harnstoff, Kreatin, Kreatinin, Harnsäure, Purinbasen, Allantoin, Karbaminsäure, Ammoniak, Hippursäure und Indikan), ist bei Affektionen der Niere von grosser diagnostischer Bedeutung. (Normales menschliches Blut hat in 100 cm<sup>3</sup> Blut 25—40 mg Reststickstoff, anormales menschliches Blut 50—400 mg.)

A. Mandel und H. Steudel (Minimetrise Methoden der Blutuntersuchung, Verlag Walter de Gruyter) bestimmten den Reststickstoff, indem sie den Stickstoff des Blutfiltrates aus 0,5 cm<sup>3</sup> Blut nach Kjeldahl in Ammoniak überführten und dieses mit Nessler's Reagens versetzten und kolorimetrisch mit der Farbe einer Lösung von bekanntem Ammoniakgehalt verglichen.

Da bei den Versuchen das aus ca. einem Tropfen zersetzten Blutes überdestillierte Ammoniak äusserst gering ist, so kann hier die azidimetrische Bestimmung nicht angewendet werden. Die hydrolytische Dissoziation des Ammoniumsulfates, bezw. des Salmiaks macht sich so störend geltend, dass man bei keinem Indikator einen scharfen Umschlag bekommt. Auch nicht beim Arbeiten mit kohlenstofffreien Flüssigkeiten! Während der Neutralisation schlägt die Farbe immer wieder zurück, sodass man ziemlich stark übertitrieren muss, was bedenklich ist, wenn es sich um Hundertstel und Tausendstel Milligramme handelt.

Bang hat hier eine befriedigende Lösung durch die jodometrische Stickstoffbestimmung gefunden. Das gebildete Ammoniak wird in der Vorlage durch wenig Salzsäure (gewöhnlich 1—2 cm<sup>3</sup>  $\frac{n}{200}$  Schwefelsäure) abgefangen; der Ueberschuss an HCl wird durch ein Jodid-Jodatgemisch nach folgender Gleichung bestimmt:



Mit  $\frac{n}{200}$ -Thiosulfatlösung wird das gebildete Jod titriert. Die Differenz der vorgelegten Säuremenge (cm<sup>3</sup>  $\frac{n}{200}$  Schwefelsäure) und der verbrauchten Thiosulfatlösung (cm<sup>3</sup>  $\frac{n}{200}$  Thiosulfatlösung) mit 0,07 multipliziert entspricht dem N-Gehalt in mg.

*Spiro*<sup>1)</sup> kann die jodometrische Säuretitrierung nicht empfehlen, da leicht Fehler unterlaufen können.

*E. Elser*<sup>2)</sup> beschreibt in einem Vortrag über die Mikrochemie und ihre Beziehungen zur Nahrungsmitteluntersuchung u. a. die Mikrostickstoffbestimmung von 1—2 Tropfen Milch nach der Methode von Bang.

Wenn wir jedoch nach der komplizierten Bestimmungsmethode von Bang arbeiten wollen, so erfordert dies eine oft langwierige Übung und ein Feingefühl im Manipulieren mit den kleinen und feinen Objekten, so dass wir von der Mikromethode absehen.

Der Lebensmittelchemiker stellt Anforderungen an die Genauigkeit der Stickstoff-, respektiv Eiweissbestimmung, die nach der Methode Bang mit der äusserst geringen Versuchsprobe, die nicht mehr als 0,1 mg Stickstoff enthält, nicht erreicht werden kann. Für die Mikrokjeldahlmethode müsste man demnach z. B. für Kasein mit 57% N-Substanz oder Tierkörpermehl mit 54% Protein 10 mg abwägen und zersetzen.

Nur solche Mikrobestimmungen haben Wert, deren Ergebnisse denen der üblichen Makrobestimmungen durchaus gleichwertig sind: eine Reduktion des zur Bestimmung notwendigen Materials, welche mit ungewissen Resultaten erkauft wird, ist absolut unzulässig.

*A. C. Andersen* und *B. Norman Jensen*<sup>3)</sup> haben ihre frühere für Makromethode beschriebene Arbeitsweise auch für Mikrobestimmungen umgearbeitet. Hier wird für die Stickstoffbestimmung eine bis 1 mg Stickstoff (10 mal mehr als bei Bang) entsprechende Substanzmenge verarbeitet. Zwecks Absorption des Ammoniaks wird in die Vorlage 1 cm<sup>3</sup> etwa 0,08 n-Salzsäure gebracht und mit einer etwa 0,015 n-Natronlauge zurücktitriert. Durch Beleganalysen, d. h. Stickstoffbestimmungen von analysenreinen organischen Verbindungen konnte die Brauchbarkeit der Methode festgestellt werden.

Für die Lebensmittelchemie hat sich die Mikromethodik von Ludwig Pincussen (Mikromethodik: quantitative Bestimmung der Harn- und Blutbestandteile in kleinen Mengen, Verlag Thieme) als durchaus brauchbar erwiesen. Gegenüber der Methode von Bang könnte man hier von einer «Halbmikrobestimmung» des Stickstoffes sprechen. Wir haben allerdings die Methodik in der Weise abgeändert, dass wir den Destillationsapparat nach Bang (käuflich bei der Firma Schaerrer, Bern, Streitgasse), mit einigen Abänderungen benützten und die Menge des zur Mikrobestimmung notwendigen Materials gewöhnlich 1—4 mg Stickstoff enthielt. Dadurch wurde die Leistungsfähigkeit der Methode für die Untersuchung der Nahrungs- und Genussmittel erreicht, ohne spezielle Lösungen und Reagenzien

<sup>1)</sup> Z. anal. Ch., **51**, 335, 1912.

<sup>2)</sup> Mitt., **17**, 203, 1926.

<sup>3)</sup> Z. anal. Ch., **83**, 114, 1931.

oder eine Mikrowage zu benötigen. In den vergangenen 6 Jahren hat sich folgende Methodik der Mikrostickstoffbestimmung allmählich entwickelt und bewährt:

### I. Zerstörung der organischen Substanz.

Es soll hier die gesamte vorhandene Stickstoffmenge quantitativ in Ammoniak übergeführt werden. Wir benützten die stark oxydierende Wirkung eines Schwefelsäure-Wasserstoffsuperoxyd-Gemisches, um pflanzliche und tierische Stoffe aufzuschliessen. *Kleemann*<sup>4)</sup> bestätigt durch seine eingehenden Versuche, dass bei dieser beschleunigten Aufschliessung keine Stickstoffverluste entstehen. Das in der Makro-Kjeldahlmethode viel benützte Kaliumsulfat, das eine Erhöhung der Siedetemperatur der Schwefelsäure bedingt, wurde weggelassen. *R. Koefoed*<sup>5)</sup> beobachtete bei der Anwendung von Kaliumsulfat ein zu starkes Wegsieden von Schwefelsäure und damit oft Stickstoffverluste. Dies haben auch *Andersen* und *Jensen*<sup>6)</sup> bestätigt, aber nur unter der Voraussetzung, dass zu heftig gekocht wurde oder aber, wenn die Wandungen des Kolbens oberhalb der Zersetzungsflüssigkeit direkt erhitzt wurden. Man muss daher Sorge tragen, dass nur derjenige Teil des Kolbens, in dem sich die Schwefelsäure befindet, erhitzt wird. Dies ist am besten durch Erhitzen auf einem Sandbade zu erreichen. Als Katalysator verwendeten wir Kupfersulfat. Man erhitzt solange, bis die organischen Stoffe mineralisiert sind und die Flüssigkeit klar, respektiv grün geworden ist. Ein weiteres Erhitzen dürfte nach Andersen und Jensen nur bei besonders schwer zerstörbaren Stoffen, wie z. B. Lysin und Pyridin notwendig sein. In Berücksichtigung vorliegender Ausführungen und auf Grund eigener Erfahrungen wurde die Zerstörung der organischen Substanz wie folgt ausgeführt:

0,1 g (eventuell 0,05 g) Substanz, die voraussichtlich 1—4 mg Stickstoff enthält, oder die entsprechende Lösung wird mit 2 cm<sup>3</sup> reiner konzentrierter Schwefelsäure, 0,5 cm<sup>3</sup> Cu SO<sub>4</sub> (Fehling) Lösung und ca. 2 cm<sup>3</sup> 15%igem Wasserstoffsuperoxyd (aus Perhydrol «Merck» hergestellt) versetzt und im Kjeldahlkolben von 100 cm<sup>3</sup> Inhalt auf dem Sandbade zersetzt. Wenn nötig, setzt man zur Mineralisation weiter Perhydrol zu, sodass sicher der gesamte Stickstoff in Ammoniak übergeführt, respektiv als Ammoniumsulfat gebunden wird. Gleichzeitig ist ein Blindversuch mit den gleichen Mengen Reagenzien auszuführen.

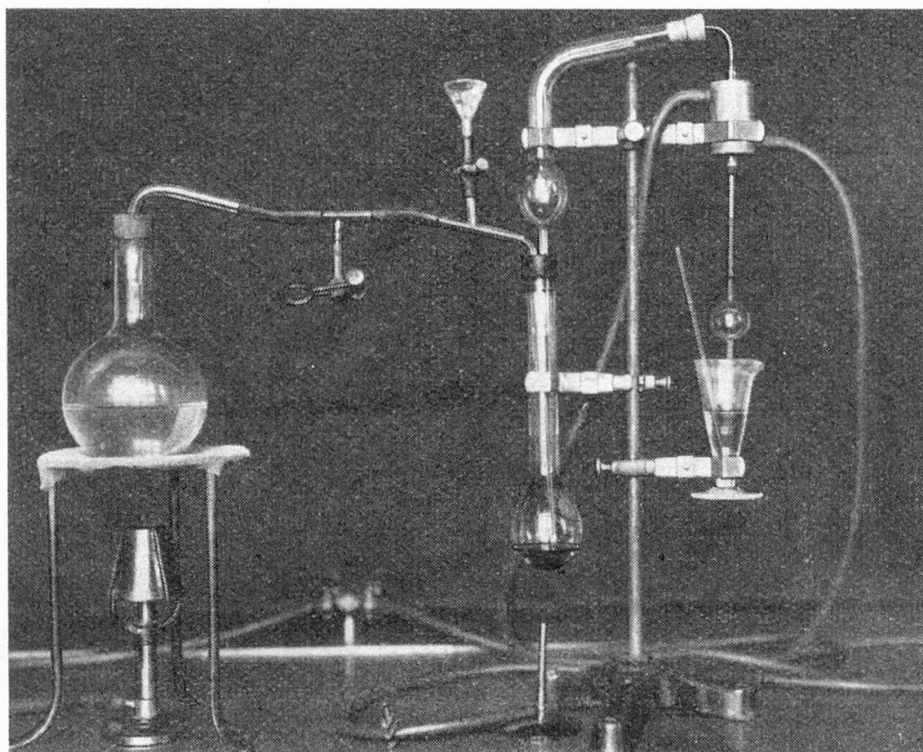
Muss man in Untersuchungsobjekten mit sehr wenig Stickstoffgehalt erhebliche Mengen organischer Substanz zerstören, so hat das einen Verlust an Schwefelsäure zur Folge, die in Form von schwefliger Säure und Wasser entweicht. Es verbrauchen z. B. 0,5 g Zucker etwa 2 cm<sup>3</sup> Schwe-

<sup>4)</sup> Z. angew. Ch., 1921, 625.

<sup>5)</sup> Z. physikal. Ch., 69, 441.

<sup>6)</sup> Z. anal. Ch., 67, 427, 1925/26.

felsäure, was bei der Bemessung der zur Verwendung gelangenden Schwefelsäure zu berücksichtigen wäre.



## II. Destillation und Bestimmung des gebildeten Ammoniaks.

Das Ueberdestillieren des Ammoniaks geschieht, nachdem die Aufschlussflüssigkeit mit 40%iger Natronlauge alkalisch gemacht wurde, mit Hilfe von heissem Wasserdampf direkt aus dem Kjeldahlkolben. Dieser trägt einen Gummistopfen mit Destillationsrohr, welches eine Vorrichtung zum Verhüten des Ueberspritzens der Lauge besitzt. Der Kühler aus Silber ist verbunden mit einem kugelförmig erweiterten Glasrohr, welches während der ganzen Destillation in die Titriersäure taucht. Dies wird erreicht mit einer Einrichtung, wodurch das die Säure enthaltende Spitzglas am Stativ gehoben und gesenkt werden kann.

Es hat sich gezeigt, dass das Ammoniak um so schneller und vollständiger abdestilliert, je kleiner die vorhandene Flüssigkeitsmenge zu Anfang der Destillation ist und wenn dieses Volumen während der ganzen Destillation, durch Erhitzen des Kjeldahlkolbens mit einer Sparflamme beibehalten wird. Die Destillation ist beendet, wenn ca. 20 cm<sup>3</sup> Flüssigkeit in die Titriersäure gelangt sind.

Der Wasserdampf wird in einer Kochflasche von 1/2 Liter Inhalt entwickelt. Man verwendet destilliertes Wasser, welches, um eventuell absorbiertes Ammoniak (aus der Laboratoriumsluft) zu binden, mit einigen Tropfen verdünnter Schwefelsäure versetzt wird. Siedesteine verhüten ein Stossen der Kochflüssigkeit.

Zur titrimetrischen Bestimmung des Ammoniaks sind folgende Lösungen nötig:

1.  $\frac{n}{50}$   $\text{H}_2\text{SO}_4$  und  $\frac{n}{50}$   $\text{NaOH}$ , zu bereiten aus den allgemein verwandten  $\frac{n}{10}$  Lösungen durch Verdünnen von  $100 \text{ cm}^3$  auf  $500 \text{ cm}^3$  mit Wasser im Messkolben. Gewöhnlich genügen die  $\frac{n}{10}$  Lösungen.
2. Indikator: wässrig-alkoholische Lösung von Methylrot, in saurer Lösung rot, in alkalischer gelb. Darstellung: 0,1 g Methylrot werden in  $300 \text{ cm}^3$  90%igem Alkohol und  $200 \text{ cm}^3$  destilliertes Wasser zugefügt.

Die Destillation wird wie folgt ausgeführt:

Nachdem die ganze Apparatur mit Dampf ausgespült und darauf Dampf durch das T-Rohr abgeleitet wurde, schaltet man das Kjeldahlkölbchen mit der Zersetzungsflüssigkeit +  $10 \text{ cm}^3$  Wasser ein. In das Spitzglas werden  $10 \text{ cm}^3$   $\frac{n}{50}$  (eventuell  $\frac{n}{10}$ ) Schwefelsäure eingefüllt und mit 4 Tropfen Methylrot versetzt. Das Kugelrohr taucht in die Titrierflüssigkeit ein. Durch das Trichterchen werden  $7 \text{ cm}^3$  40% Natronlauge eingefüllt, der Dampf durch Schliessen des Quetschhahns eingeleitet und mit der Sparflamme das Kjeldahlkölbchen, in dem sich jetzt schwarzes Kupferoxyd abscheidet, geheizt um so eine Vermehrung des Flüssigkeitsvolumens zu vermeiden. Sind ca.  $20 \text{ cm}^3$  Destillat übergetrieben, so wird der Säureüberschuss mit  $\frac{n}{50}$  (eventuell  $\frac{n}{10}$ ) Lauge zurücktitriert. Der Blindversuch (ca.  $0,1 \text{ cm}^3$   $\frac{n}{10}$ ) wird abgezogen.

$1 \text{ cm}^3$   $\frac{n}{50}$  (respektiv  $\frac{n}{10}$ ) Säure entspricht 0,28 (respektiv 1,4) mg Stickstoff.

Zur eventuellen Kontrolle macht man die Destillation mit einer Ammoniumsulfatlösung [ $4,721 \text{ g}$   $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$  im Liter], die in  $1 \text{ cm}^3$  1 mg Stickstoff enthält.

Die meisten Fehlerquellen liegen jedoch nicht in der Destillation und Titrierung des Ammoniaks, sondern im Destruktions-Prozess der organischen Substanz.

Die folgenden Beispiele sollen die vielseitigen praktischen Anwendungsmöglichkeiten der Mikrokjeldahlmethode im Gebiete der Lebensmittelchemie illustrieren.

### I. Milch und Milchprodukte.

In mehreren Fällen kamen wir in die Lage, mit einer relativ geringen Menge Frauenmilch möglichst rasch den Nachweis der Echtheit zu erbringen. Hier hat die Mikrostickstoffbestimmung uns rasch eine Orientierung ermöglicht. J. Tillmans (Lehrbuch der Lebensmittelchemie, 1927, Verlag Bergmann) gibt für Kuhmilch als Gesamtstickstoffsubstanz etwa 3—3,5%, für Frauenmilch etwa 1,7% an. Nach Franz Fuhrmann (Die Chemie der Nahrungs- und Genussmittel, Verlag Urban und Schwar-

zenberg) erleidet das Mischungsverhältnis von Wasser, stickstoffhaltigen und stickstofffreien organischen Verbindungen und Salzen in Frauenmilch nennenswerte Schwankungen, die, wie die Menge der Milch selbst, zum grössten Teil auf die Eigenart der Frau zurückgehen, während die Ernährung, vorausgesetzt, dass sie genügend ist, wenig Einfluss hat. So schwankt der Fettgehalt der Frauenmilch zwischen 1 und 6% (Mittel 4%), während der Stickstoffgehalt nur geringen Schwankungen ausgesetzt ist und nach Fuhrmann ein normaler Durchschnitt von 1,56 für die Stickstoffsubstanz angenommen werden kann.

Mit 5 oder 10 cm<sup>3</sup> einer guten Mischung von 5 cm<sup>3</sup> Milch in 50 cm<sup>3</sup> Flüssigkeit (titriert mit  $\frac{n}{50}$ , respektiv  $\frac{n}{10}$  Lösung) können rasch genau übereinstimmende Stickstoffbestimmungen ausgeführt werden und dadurch eine grobe Streckung der teuren Frauenmilch mit Kuhmilch aufdecken. Zusätze bis 10% Kuhmilch lassen sich allerdings nur durch die Bestimmung der Reichert-Meissl'schen Zahl (Kuhmilch ca. 28,0, Frauenmilch ca. 1,3) mit dem aus 100 cm<sup>3</sup> Milch nach Röse isolierten, Fett erkennen.

Verschiedene Proben mit 5 cm<sup>3</sup> einer mit Wasser verdünnten kondensierten Milch, entsprechend 0,25 g ursprüngliches Material, ergaben übereinstimmend (Titration mit  $\frac{n}{10}$  Lösung) einen Gehalt an Stickstoffsubstanz von 8,07%, der auch mit der langwierigen Makromethode, ausgehend von 6 und 7 g kondensierter Milch, erhalten wurde.

Selbst hergestellte Rahmbonbons ergaben den zu erwartenden Caseingehalt von 2,69%. Verwendet wurden 5 cm<sup>3</sup> Filtrat einer Lösung von 4,4 g Bonbons, auf 100 cm<sup>3</sup> aufgefüllt, entsprechend 0,2222 g Bonbons (Titration mit  $\frac{n}{50}$  Lösung).

Auch das Wurstbindemittel «Milpu», ein Caseinpräparat, mit dem hohen Eiweissgehalt von 64,7% konnte nach der Mikrokjeldahlmethode untersucht werden und zwar bei Anwendung von 50 mg Substanz und Titration mit  $\frac{n}{10}$  Lösung. Als Berechnungsfaktor für das (technische) Casein wurde nach *Bonnema*<sup>7)</sup> die Zahl 6,99 verwendet.

## II. Fleisch und Fleischwaren.

Zur Mikromethode geeignet sind hier die Fleischextrakte und Bouillonwürfel, mit denen sich Lösungen herstellen lassen, sodass mit Hilfe einer Pipette leicht das Flüssigkeitsvolumen abgemessen werden kann, welches zur Bestimmung 1—3 mg Stickstoff enthalten soll.

Die Bestimmung des Stickstoffgehalts in Tierkörpermehl bietet Schwierigkeiten, wegen des hohen Gehaltes an Stickstoff (ca. 54%) und der unhomogenen Mischung. Wir behelfen uns dadurch, dass wir zur Mikromethode im Achatmörser 0,4 g Tierkörpermehl mit 1,6 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gut

<sup>7)</sup> Z. U. N. G., 18, 674, 1909.

mischten und von dieser Mischung dann 0,1 g, entsprechend 0,0200 g Substanz abwogen. (Titration mit  $\frac{n}{50}$  Lösung und Blindversuch mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anstellen.)

### III. Mahlprodukte, Brot und anderes Gebäck.

Mit 0,1 g Mehl oder getrocknetem Gebäck lässt sich leicht und in kürzester Frist eine Stickstoffbestimmung ausführen. Der Stickstoffgehalt des Mehles gibt uns den Gehalt an Eiweiss (Aleuronat) und damit rasch ein Bild über den Ausmahlungsgrad eines Mehles. So gibt H. Röttger (Lehrb. d. Nahr. Chem., 1926, 632) für Weizen und seine Mahlprodukte folgende Zusammensetzung:

	Ganzes Korn	Feinstes Mehl	Zweites Mehl	Drittes Mehl	Nachmehl
Eiweiss	15,49	13,24	15,08	19,36	20,35

Dieses wird dann bestimmend sein, ob ein weiteres Kriterium, der Rohfasergehalt, durch die zeitraubende Bestimmung nach König auszuführen ist. In einem Gebäck wird die Mikrokjeldahlmethode uns rasch Aufschluss geben über die Art des verwendeten Mehles oder ob zur Herstellung des Gebäckes Eier (respektiv Milch) verwendet wurden.

Wie im Mehl, so haben wir auch mit Erfolg in Malzpräparaten (mit 0,1 g Substanz, titriert mit  $\frac{n}{50}$  Lösung) den Stickstoff bestimmt.

### IV. Eier und Eierkonserven.

Auch hier kommen 0,1 g Trockenpulver zur Anwendung. (Bei der Destillation des Ammoniaks sind  $10 \text{ cm}^3 \frac{n}{10}$  Schwefelsäure vorzulegen.) Da wir in diesen Präparaten einen hohen Gehalt von ca. 40% Protein zu erwarten haben, so wird die Mikromethode kaum die verlangte Genauigkeit der Stickstoffbestimmung (auf 0,10% genau) erfüllen. Die Einsparung von Zeit und Material darf hier nicht mit unsicheren Resultaten erzwungen werden. Die Mikrobestimmung gibt in diesen Fällen einen Annäherungswert zwecks rascher Orientierung über den Eiweissgehalt.

### V. Honig.

Nach E. Elser: Die Grundlagen der chemischen Honigforschung (Landwirtschaftliches Jahrbuch 1929, pag. 472), hat sich die Bestimmung des Stickstoffs mit Hilfe der mikrochemischen Methode in ausgezeichneter Weise bewährt. Elser empfiehlt die Methode besonders im Hinblick darauf, dass die Bestimmung des Stickstoffs des Honigs eine der umständlichsten Methoden ist, die wir auf dem Gebiete der Honiguntersuchung kennen. Tillmanns (Lehrbuch der Lebensmittelchemie 1927, 211) gibt für die Stickstoffsubstanzen Grenzen von 0,8—2,7% an. Dagegen führt E. Elser Beispiele an mit geringerem Gehalt an Stickstoffsubstanzen:

Blütenhonig . . .	0,43 %	Kunsthonig . . .	0,106 %
Havannahonig . .	0,45 %	Kunsthonig . . .	0,20 %
Einheimischer Honig	0,31 %		



Kunsthonige dagegen haben erheblich weniger Stickstoffsubstanz, oder gar keine.

### VI. Kaffee.

Hier handelt es sich um die Mikrostickstoffbestimmung des, nach der von Prof. Kreis modifizierten Methode von Lendrich und Nottbohm, erhaltenen Coffeins zwecks Berechnung des Gehaltes an Rein-Coffein<sup>8)</sup>. Dieses zeigt gegenüber dem Roh-Coffein, erhalten nach Oxydation mit  $\text{KMnO}_4$ , aus coffeinfreiem Kaffee, eine Abnahme von ca. 30—60 mg pro 100 g Kaffee, welches zeigt, dass das nach der Methode von *Lendrich* und *Nottbohm*<sup>9)</sup> gereinigte Coffein auf Grund der Stickstoffbestimmung immer noch wesentliche Verunreinigungen von stickstofffreien Stoffen enthält. Bei nicht entcoffeiniertem Kaffee sind die Unterschiede zwischen Roh-Coffein und dem, aus seinem Stickstoffgehalt errechneten Rein-Coffein bis etwa 150 mg pro 100 g Kaffee. Da nach Art. 208 der eidg. Lebensmittelverordnung der Coffeingehalt für coffeinfreien Kaffee auf mindestens 0,15% herabgesetzt sein muss, so ist nach obigen Ausführungen nur der Rein-Coffeingehalt zur Beurteilung ausschlaggebend.

Zur Stickstoffbestimmung löst man das Roh-Coffein in Chloroform auf, verdunstet das Lösungsmittel im Kjeldahlkölbchen ab und zersetzt, wie üblich, mit 2 cm<sup>3</sup> konzentrierter Schwefelsäure und Wasserstoffsperoxyd. Das gebildete Ammoniak wird in 10 cm<sup>3</sup>  $\frac{10}{10}$  H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> destilliert:

$$1 \text{ cm}^3 \frac{10}{10} = 4,87 \text{ mg Coffein.}$$

Bei einem hohen Gehalt an Roh-Coffein, z. B. aus Rohkaffee, wird eine entsprechende 0,04 g Roh-Coffein enthaltende Chloroformlösung zur Mikrostickstoffbestimmung angewendet.

### VII. Wein.

Die Eiweissverbindungen der Traubenbeere sind hauptsächlich in den Hülsenzellen abgelagert. Die Hefe hat eine Leibessubstanz, mit der sie chemisch sehr verschiedene Stickstoffverbindungen aufzubauen vermag. C. von der Heide (*Der Wein*, 1922, Verlag Vieweg) hat in 1237 deutschen Weinen folgenden Stickstoffgehalt festgestellt:

(Z = Zahl der untersuchten Weine, N = N-Gehalt Gramm im Liter.)

	0	0,20	0,40	0,60	0,80	1,00	1,20
N	bis	bis	bis	bis	bis	bis	bis
	0,19	0,39	0,59	0,79	0,99	1,19	1,80
Z	14	410	397	259	99	36	22
in %	1,1	33,1	32,1	20,9	8,0	2,9	1,8

Die Tabelle zeigt, dass rund 90% der untersuchten Weine einen Stickstoffgehalt von 0,20—0,79‰ aufweisen.

<sup>8)</sup> *Pritzker*, Z. U. L., 51, 100, 1926; *Högl*, Mitt., 18, 357 u. 363, 1927.

<sup>9)</sup> Z. U. N. G., 17, 241, 1909

In 241 italienischen Weinen fand C. Mensio 0,034—0,322 g Stickstoff. Im allgemeinen ist der Stickstoffgehalt im Weine bedeutend niedriger als im Moste. Doch kann die Hefe in späterer Zeit wieder Stickstoffverbindungen an den Wein abgeben. Deshalb sind vor allem Hefeweine sehr stickstoffreich und alle auf Trester vergorenen Weine stickstoffreicher als Weine, die keine Mischung durchgemacht haben. Nach Vorschrift des Schweiz. Lebensmittelbuches werden zur Bestimmung des Stickstoffs 100—200 cm<sup>3</sup> Wein zersetzt. Für die sehr rasch auszuführende Mikrobestimmung genügen 2—5 cm<sup>3</sup> Wein (Titration mit  $\frac{n}{50}$  respektiv  $\frac{n}{10}$  Lösung). Die folgenden Beispiele wurden nach dieser Methode ausgeführt.

Rotwein Nr. I . . . . .	0,16 g	Stickstoff im Liter
Rotwein » II . . . . .	0,33 »	» » » »
Vinum Cinchonæ Ph. Helv. IV	0,48 »	» » » »
Vinum Colæ Ph. Helv. IV	0,61 »	» » » »

Auffallend ist hier, dass in den Medizinalweinen die Alkaloide der Chinarinde, respektiv der Kolanuss einen so geringen Einfluss auf den Stickstoffgehalt ausüben. Nehmen wir an, die Hälfte des Stickstoffes in Kolawein stamme aus Coffein, so wäre nur ca. 1 g Coffein im Liter Mezidinalwein enthalten, was dem Gehalt in einem starken Kaffeetränk (Jahresbericht Basel-Stadt pro 1926, pag. 14) entsprechen würde.

In einem Weinrest mit schlechtem Geschmack, der von der gleichen Gegend wie obiger Rotwein No. II stammte, wurde durch die Mikrostickstoffbestimmung 1,1 g Stickstoff im Liter, statt ca. 0,3 g gefunden. Dieses rechtfertigte den Verdacht auf Urinzusatz, und tatsächlich zeigte die mikroskopische Untersuchung des Trubs Epithelzellen der Blase.

### VIII. Gewürze (Safran).

A. Bonis (Ann. Fals., No. 281, mai 1932), Directeur au Laboratoire Central du Ministère de l'Agriculture, berichtet über die zurzeit häufigst vorkommende Verfälschung des Safrans durch Beschwerung mit Zucker und Mineralstoffen, letztere, um den Ausfall an Aschenbestandteilen wieder auszugleichen. Nach M. Pierlot (Ann. Fals., No. 175, mai 1923, 216) wird der Safran in eine mehr oder weniger konzentrierte Lösung von Zucker, invertiertem Zucker oder Honig, oft Natriumsulfat enthaltend, bei 25—30° eingetaucht, nach 20—30 Minuten Einwirkungsdauer herausgezogen, auf Hurden ausgebreitet und langsam an der Luft getrocknet, sodass die Absorption sich durch die Osmose vervollständigen kann. Aus 2 kg Safran können auf diese Weise 3 kg Droge hergestellt werden. Die äussere Ansicht und Beschaffenheit bleibt durch die Beschwerung durchaus normal und das Aroma ist nicht verändert worden. Die mikroskopische Prüfung zeigt die charakteristischen anatomischen Merkmale, ohne dass diese verändert aussehen. Auch die Untersuchung nach dem

Schweizerischen Lebensmittelbuch (respektiv Anhang) wird die Fälschung nicht aufdecken; die folgenden Anforderungen:

Wasser . . . . .	6 bis höchstens	15 %
Gesamtasche . . . . .	4,5 » »	8 %
In HCl unlösliche Asche	höchstens	2 %
Stärke . . . . .	0	
Rohfaser . . . . .		6—8 %

können bei der mit Zucker und Mineralstoffen erschwerten Droge durchaus erfüllt werden. Die Vermutung liegt nahe, dass die Reduktionsfähigkeit des wässrigen Extraktes (vor und nach Inversion), gegenüber Fehling-scher Lösung sogleich das Beschwerungsmittel Zucker aufdecken wird. Demgegenüber hat A. Bonis festgestellt, dass der normale Safranauszug (60% Extrakt) 24% direkt reduzierende Stoffe besitzt. Meist steht aber zur Untersuchung zu wenig an wertvollem Material zur Verfügung, um die nötigen Zuckerbestimmungen neben den vorgeschriebenen Prüfungen und Bestimmungen vorzunehmen.

Die Mikrostickstoffbestimmung, ausgeführt mit nur 0,1 g Safran (Titration mit  $\frac{n}{50}$  Lösung) bot uns ein ausgezeichnetes Hilfsmittel, um — neben der mikroskopischen Prüfung — mit ca.  $\frac{1}{2}$  Gramm Untersuchungsmaterial in kürzester Frist eine Verfälschung sicher zu erkennen.

M. Pierlot (Ann. Fals., No. 87, janvier 1916, No. 175, mai 1923, No. 201/2, juillet/août 1925) fand in 34 Bestimmungen von handelsüblichem Safran einen Stickstoffgehalt von 2,3%, in *Crocus electus* 2,4%. Eine Erhöhung des wässrigen Extraktes (Zucker, Mineralstoffe) wird eine Verminderung an Stickstoff herbeiführen, wie folgende Tabelle zeigen wird:

**N**% (Trockensubstanz)

2,40 reiner Safran	} der Firma Thiercelin et Violet de Pithiviers-en-Gâtinais
2,44 Extra Qualität	
2,55 Safranpulver	} abnormaler Stickstoffgehalt wegen der 30—50 % Pollenbeimischung
2,93 Safranpulver	
1,38 Safranpulver	zu 40 % verfälscht mit Zucker und Natriumsulfat.

Pierlot bestimmt den Stickstoff mit 2 g getrocknetem Safran (96° C.) nach der Methode von Kjeldahl. Unsere Werte auf Grund der Mikrostickstoffbestimmung von je 0,1 g Safranpulver seien hier wiedergegeben:

**N**% (Trockensubstanz)

2,38 reiner Safran aus unserer Sammlung
2,28 reiner Safran mit 8,3 % Asche und 2,1 % Sand
1,82 Safran verfälscht mit Saflor und Borax
3,10 Safran mit Sandelholz und Teerfarbstoff verfälscht
3,20 vorwiegend Staubblätter (Stamina, d. h. Bruchstücke der Antherenwand) mit wenig Safran, vermischt.

In zwei Safranmustern, die vorwiegend Staubblätter (Stamina) enthielten, fand Pierlot gleichfalls einen erhöhten Stickstoffgehalt von 2,60 und 2,77% (auch Pollen sind ebenfalls reich an Stickstoff), während die Griffel (Stylus) nur 1,97—2,2% Stickstoff enthalten sollen. Darum dürften bei einer Streckung von Safran (= getrocknete Narbenschkel, Stigmen, mit höchstens kurzen Griffelstückchen) mit Griffel, letztere den konstanten Stickstoffgehalt des Safrans (2,3, respektiv 2,4%) merkbar herabsetzen.

### IX. Verschiedenes.

Wie sehr die Mikrokjeldahlmethode brauchbar ist in Fällen, wo — wie bei Safran — meist wenig Material zur Verfügung steht, mögen noch kurz zwei Beispiele illustrieren:

1. Einige homöopathische Tabletten sollten verdauungsfördernde Wirkung besitzen. Der Eiweiss-Verdauungsversuch nach der Ph. Helv. IV deutete auf Pepsin. Die Mikrostickstoffbestimmung mit 10 cm<sup>3</sup> einer Auflösung von 0,255 g (= eine Tablette) in 50 cm<sup>3</sup>, also mit 0,051 g Substanz ergab 1,37% N, respektiv  $1,37 \times 7$  (Pepsin hat 14,3% Stickstoff) = 9,59% Pepsin. Der Rest der Tablette reichte noch zur Milchzuckerbestimmung (78,6%).
2. Infolge unrichtiger Lagerung hatte eine grössere Sendung Zucker einen unangenehmen, fischartigen Beigeschmack angenommen. Von verschiedenen Säcken wurde Staupulver abgebürstet. Die Mikrostickstoff-Bestimmung von 0,1—0,3 g Sackstaub ergab 5—10% Protein, welches den Verdacht auf Verunreinigung der Zuckersäcke mit Fischmehl bestätigte.

### Zusammenfassung.

1. Die Mikrostickstoffbestimmung, die von den Mikromethoden am ehesten für den Lebensmittelchemiker praktisch von Interesse ist, wird beschrieben.
2. Es wird eine leicht ausführbare Methode angegeben, die erlaubt, ohne grosse Hilfsmittel rasch brauchbare Resultate zu erzielen.
3. Es wird an vielen Beispielen die Mikrostickstoffbestimmung als wertvolle Bereicherung in der Untersuchungsmethodik der Nahrungs- und Genussmittel praktisch gezeigt und auf die vielseitigen Anwendungsmöglichkeiten hingewiesen.
4. Die Mikromethode soll die Makromethode nicht verdrängen, sondern ihr Anwendungsgebiet ist vorwiegend dort, wo eine rasche Orientierung oder Kontrolle über den Stickstoffgehalt erwünscht ist und wo wenig Untersuchungsmaterial zur Verfügung steht.
5. Wird eine Genauigkeit auf  $\frac{1}{10}$ % Stickstoff verlangt, so wird bei sehr stickstoffreichen Stoffen, die eine passende Verdünnung zur Mikrobestimmung nicht erlauben, die Makromethode weiterhin vorteilhaft angewendet.