

Trennung der Zuckerarten

Autor(en): **Fellenberg, Th. von**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **38 (1947)**

Heft 4-5

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983031>

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

Offizielles Organ der Schweiz. Gesellschaft für analytische und angewandte Chemie

TRAVAUX DE CHIMIE ALIMENTAIRE ET D'HYGIÈNE

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

Organe officiel de la Société suisse de chimie analytique et appliquée

ABONNEMENT: Schweiz Fr. 15.— per Jahrgang. Preis einzelner Hefte Fr. 2.75
Suisse fr. 15.— par année. Prix des fascicules fr. 2.75

BAND XXXVIII

1947

HEFT 4/5

Trennung der Zuckerarten

Von *Th. von Fellenberg*

(Aus dem Laboratorium des Eidgenössischen Gesundheitsamtes)

I.

Die gebräuchliche gravimetrische Zuckerbestimmung leidet an verschiedenen Mängeln. Es wird in den Vorschriften nirgends erwähnt, dass ein Blindversuch mit *Fehlinglösung* vorzunehmen sei und doch ist ein solcher bei genauen Bestimmungen notwendig, da die anfänglich nur geringe Selbstreduktion der alkalischen Seignettesalzlösung im Laufe der Zeit erheblich zunimmt. Man sollte deshalb auch in den Vorschriften darauf hinweisen, dass nicht mehr von dieser Lösung herzustellen sei, als innert einigen Wochen verbraucht wird.

Ein Übelstand, der sich besonders bei der Bestimmung mehrerer Zucker neben einander geltend macht, besteht darin, dass die Vorschriften für die einzelnen Zuckerarten, die ja von verschiedenen Autoren herrühren, teilweise verschiedene Erhitzungszeiten verlangen. Sind mehr als zwei Zucker vorhanden, so versagen die üblichen Methoden überhaupt. Man ist auch gelegentlich im Ungewissen, ob wirklich der Zucker vorliegt, auf welchen man die Reduktion berechnet.

Ich suchte nun, zu Handen der Neuauflage des schweizerischen Lebensmittelbuches einen Analysengang auszuarbeiten, welcher eine sichere Charakterisierung der einzelnen Zuckerarten und ihre Trennung, auch wenn 3 oder 4 Zucker vorliegen, gestattet. Ein solcher Analysengang könnte dann, nachdem er sich auch in andern Händen bewährt haben würde, als vorläufige, unverbindliche Methode aufgenommen werden.

Als Grundlage für die Trennungen dient die Zuckerbestimmungsmethode von *Hadorn* und mir ¹⁾, welche im Prinzip darin besteht, dass das entstandene Kupfer (I)-oxyd auszentrifugiert, auf geeignete Weise in Lösung gebracht und mit Jod titriert wird. Nach Abzug des Blindwertes wird der Jodverbrauch in Zucker umgerechnet.

Die Hauptvorzüge des Verfahrens bestehen darin, dass mehrere Bestimmungen nebeneinander ausgeführt werden können, dass die Erhitzungszeit überall dieselbe ist, dass keine Tabellen notwendig sind, da innert eines weiten Bereiches für jede Zuckerart ein bestimmter Faktor verwendet werden kann. Die Hauptbedingung für die Richtigkeit der Bestimmung ist selbstverständlich eine genaue Titerstellung der verwendeten Jodlösung.

Die Faktoren, mit welchen die cc 0,02 n-Jodlösung multipliziert werden müssen, um mg-Zucker zu erhalten, sind in Tabelle 1 angegeben.

Tabelle 1
Zuckerfaktoren

1 cc 0,02 n - Jodlösung entspricht mg Zucker:	
Invertzucker	0,731
Glucose	0,687
Fructose	0,775
Saccharose	0,694
Lactosehydrat	0,986
Maltosehydrat	1,200

Der Reduktion kann auch eine schwache oder starke Inversion der Di- und Polysaccharide vorausgehen. Ferner lassen sich Methoden auf die nicht invertierten und die invertierten Lösungen anwenden, welche entweder nur die Monosaccharide oder nur die Aldosen oder nur die Ketosen umfassen. Durch geeignete Kombination dieser möglichen Bestimmungen lassen sich die einzelnen Zuckerarten voneinander trennen.

Unter schwacher Inversion verstehen wir die gewöhnliche Saccharoseinversion, wobei in der Regel 1 cm³ n-HCl auf 50 cm³ Flüssigkeit verwendet wird, also die Inversion in 0,02 n-salzsaurer Lösung während 30 Minuten. Die starke Inversion erfolgt in n-salzsaurer Lösung während 45 Minuten ²⁾.

Es schien nun zur Charakteristik der einzelnen Kohlenhydrate nicht uninteressant, auch die Zwischenstufen dieser Inversionen kennen zu lernen. Man erhitzte die einzelnen Kohlenhydrate je 30 Minuten lang im siedenden Wasserbad in 0,02, 0,1, 0,25, 0,5, 0,75, In-salzsaurer Lösung und ferner 45 Minuten in In-salzsaurer Lösung und erhielt die in Tabelle 2 wiedergegebenen Werte.

Tabelle 2
Inversion der Kohlenhydrate bei steigender Salzsäurekonzentration

Inversion: n-HCl: Min.:	nicht Inv.	schwache Inv. 0,02 30	0,1 30	0,25 30	0,5 30	0,75 30	1 30	starke Inv. 1 45
Glucose	100	—	—	—	—	—	—	100
Fructose	100	100	100	100	96,4	91,4	91,1	78,1
Saccharose	0	100	—	—	—	—	—	89,0
Lactosehydrat	100	102,3	117,0	130,9	140,0	147,5	149,6	151,4
Maltosehydrat	100	102,3	117,8	139,1	171,5	183,1	187,2	188,9
Dextrine als Glucose								
Nr. 1	1,41	4,28	16,4	39,0	77,5	95,0	100,0	105,0
Nr. 2	1,73	3,97	16,0	40,0	75,5	89,1	99,0	104,0
Nr. 3	2,13	5,54	17,2	42,2	76,0	93,2	98,7	103,7
Nr. 4	4,25	7,40	17,8	40,7	80,2	95,1	101,0	106,0
Inulin	0	94,0	96,4	97,9	96,0	92,9	90,4	83,4

Die relativen Viscositäten der Dextrine, bestimmt in 10%iger Lösung, bezogen auf Wasser von 20° und ihre Farbenreaktionen mit Jod sind:

Dextrin	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3	Nr. 4
Mittlere Kettenlänge	71	58	47	23,5
rel. Visc.	3,823	3,171	2,157	1,917
Färbung mit J	blauviolett	purpur	rot	orangerot

Das Dextrin ist der Tabelle als Glucose, Inulin als solches unter Anwendung des mit 0,9 multiplizierten Fructosefaktors berechnet.

Da Dextrin kein einheitlicher Körper ist, wurde eine Trennung in verschiedene Fraktionen vorgenommen. Ein weisses Dextrin des Handels wurde in Wasser gelöst und durch vorsichtigen Alkoholzusatz fraktioniert gefällt, indem man jedesmal Alkohol bis zur Trübung zusetzte und tage- und wochenlang bis zur Klärung stehen liess. Man erhielt 4 Fraktionen, welche nochmals mit Alkohol umgefällt und mit Alkohol und Äther entwässert wurden. Man bestimmte ausser der Reduktion nach verschiedenen langer Inversion auch die relative Viskosität bei 20°, bezogen auf Wasser, im Viscosimeter nach *Ostwald* und die Farben-

reaktionen mit Jod. Diese zogen von Nr. 12 bis Nr. 6 des 24teiligen *Ostwald-*Farbenkreises, d. i. vom 3. Violett bis zum 3. Orange.

Die Eigenreduktion der Dextrine bewegt sich zwischen 1,41 und 4,25. Wenn wir annehmen, dass kein direkt reduzierender Zucker in den 4 Fraktionen als Verunreinigung enthalten ist, sondern dass es sich um endständige Aldehydgruppen handelt, die reduzieren und dass diese gleich stark reduzieren, wie die Aldehydgruppe der Glucose, kommen wir auf mittlere Kettenlängen von 71, 58, 47 und 23,5.

Als weiteres Polysaccharid wurde Inulin untersucht. Es wurde aus Topinambourknollen gewonnen. Die Knollen wurden zerrieben und gepresst. Das Inulin wurde aus dem Saft mit Alkohol gefällt und noch mehrmals fraktioniert umgefällt. Dabei fielen zuerst unreine, dunkle Fraktionen aus und erst zum Schluss reines, weisses Inulin.

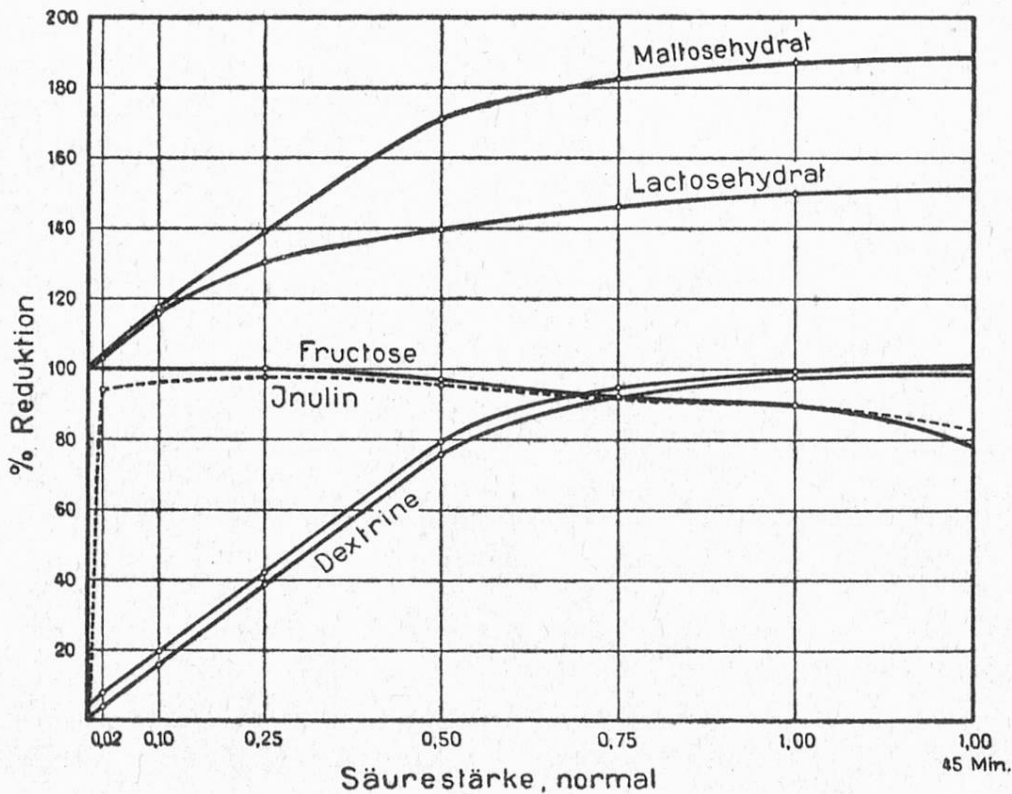


Abb. 1

Die Hauptwerte der Tabelle sind in Abb. 1 graphisch eingezeichnet. Glucose bleibt bei der Säurebehandlung unverändert. Fructose hält noch eine Erhitzung in 0,5n-HCl während 30 Minuten ohne Schädigung aus, mit 0,75n-Säure beginnt aber die Zersetzung, die mit einem Verlust von 22% endet.

Inulin reduziert direkt nicht im geringsten. Es wird aber bereits in 0,02n-HCl zu 95% aufgespalten. Die weitere Hydrolyse geht nur allmählich vor sich und erreicht ihr Maximum bei 0,5n-HCl. Dann beginnt auch hier der Zufall der entstandenen Fructose.

Durch Gegenwart anderer Zucker scheint die Inversion verzögert zu werden. Bei einem Topinamboursaft, dessen Analyse später gegeben wird, betrug die Aufspaltung des Inulins in 0,02n-HCl nur 74 %.

Lactose zeigt bekanntlich bereits bei 0,02n-HCl eine leichte Erhöhung der Reduktion. Die Kurve steigt allmählich und geht schliesslich nach 45 Minuten langem Erhitzen in n-HCl auf 151 % des ursprünglichen Wertes hinauf.

Maltose zeigt bei 0,02n-HCl denselben Wert, wie Lactose. Die Kurve steigt dann aber zunächst steiler an, als bei Lactose und zwar bis 0,5n-HCl nahezu geradlinig. Dann wird der Anstieg schwächer. Es werden schliesslich 189 % des Anfangswertes erreicht.

Bei den Dextrinen ist die Eigenreduktion der 4 Fraktionen wie erwartet etwas verschieden in dem Sinn, dass das höchstmolekulare am wenigsten, das niedrigst molekulare am stärksten reduziert. Bei höhern Säurekonzentrationen gleichen sich die Unterschiede bald einigermaßen aus.

Die Dextrinkurve zeigt dieselbe Eigentümlichkeit, wie die Maltosekurve, dass sie bis zu 0,5n-HCl nahezu geradlinig verläuft und sich dann allmählich abflacht. Bei vollständiger Hydrolyse sollten aus 100 Teilen Dextrin ($C_6H_{10}O_5$) 111 Teile Glucose entstehen. Wir kommen aber nur auf zirka 105 %. Die Umwandlung scheint somit keine vollständige zu sein.

Für unsere Berechnungen benötigen wir von dieser Tabelle nur die Werte der schwachen und der starken Inversion (30 Minuten in 0,02n- und 45 Minuten in n-HCl). Man könnte zwar auch, besonders etwa bei Anwesenheit von Dextrin, irgendeine mittelstarke Inversion zu Rate ziehen, es würde dies aber die ohnehin nicht einfachen Berechnungen allzusehr komplizieren.

II. Bestimmung der Monosaccharide mit Barfoedlösung

*Barfoed*³⁾ stellte bereits vor mehr als 70 Jahren fest, dass Glucose eine mit wenig Essigsäure versetzte Kupfer(II)-acetatlösung reduziert, während Dextrin unter diesen Bedingungen nicht reagiert. Er fand, dass auch Saccharose und Lactose dabei unverändert bleiben.

Diese qualitative Reaktion von *Barfoed* ist im Laufe der Zeit von verschiedenen Seiten aufgegriffen und zur Bestimmung von Glucose neben Maltose verwendet worden. Besonders eingehend haben sich *Braun* und *Bleyer*⁴⁾ damit befasst. Sie stellten fest, dass zwar auch die reinste Maltose eine gewisse, leichte Reduktion aufweist, dass diese aber sehr viel geringer ist, als diejenige der Glucose, so dass Bestimmungen von Glucose neben Maltose möglich sind. Ich selbst⁵⁾ habe die Barfoedreaktion zur Untersuchung von Malzextrakt und Stärkesirup verwendet.

Barfoedlösung wird meist als ein typisches Reagens auf Glucose angesehen; sie ist aber ein Reagens auf alle Monosaccharide. Fructose reagiert noch stärker, als Glucose. Die Disaccharide reduzieren das Reagens sehr schwach, aber doch merkbar.

Die Bestimmungen mit *Barfoed*-Lösung sind etwas heikel. Um vergleichbare Werte zu erhalten, muss man sich streng an eine einmal aufgestellte Vorschrift halten. Jede Abweichung gibt ganz bedeutende Fehler, wenn nicht direkt unbrauchbare Werte.

Das Reagens, welches beispielsweise *Braun* und *Bleyer* anwenden, besteht aus einer Lösung von 25 g Kupfer(II)-acetat + H₂O und 3 cm³ Eisessig im Liter. Ich habe auf Rat von *H. Hadorn* hin die Lösung durch Zusatz von 10 g Natriumacetat zum Liter gepuffert, da vorauszusehen war, dass das pH sich während der Reaktion durch Bildung von Säure aus Zucker erniedrigt. Die ungepufferte Lösung ging denn auch bei Verwendung von 5 mg Glucose von pH 4,75 auf pH 4,3 zurück. Der Natriumacetatzusatz an sich erhöhte das pH nur auf 4,80. Trotzdem stieg der Jodverbrauch ziemlich erheblich.

Einfluss der Erhitzungsdauer

Je 15 mg Glucose, gelöst zu 5 cm³ Wasser, wurden mit 15 cm³ ungepuffert Barfoedlösung verschieden lang im siedenden Wasserbad erhitzt. Darauf wurde abgekühlt und das entstandene Kupfer(I)-oxyd nach *Hadorn* und von *Fellenberg* titriert. Man fand:

Tabelle 3

Erhitzungsdauer	cc 0,02 n-J auf 15 mg Glucose
5 Minuten	9,38
10 Minuten	14,57
15 Minuten	17,57

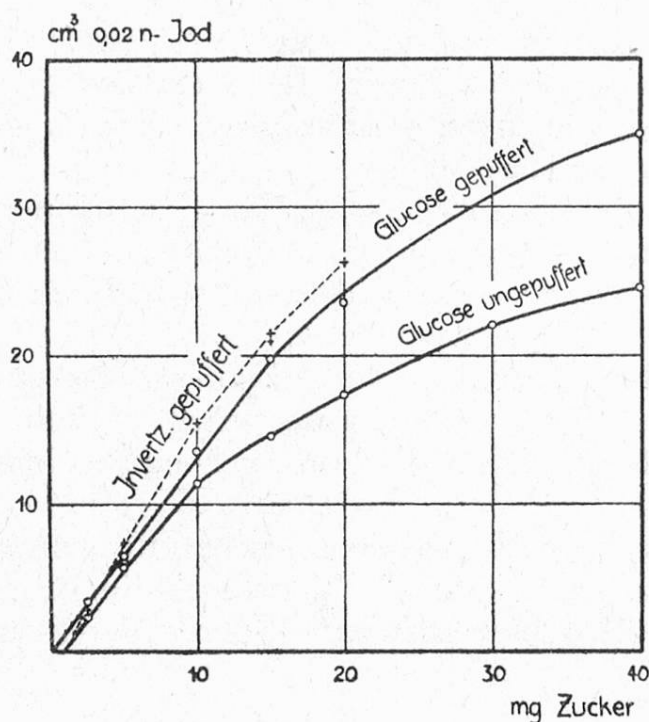


Abb. 2

Die Reaktion geht nur langsam ihrem Endwert entgegen. Nach der Abb. 2, wobei die höheren Werte extrapoliert sind, dürfte sie ihn nach ungefähr 25 Min. langem Erhitzen erreicht haben. Bei so langem Erhitzen wäre aber die Gefahr vorhanden, dass gleichzeitig vorhandene Saccharose in der sauren Lösung weitgehend invertiert würde. Ich entschloss mich aber zu nur 10 Minuten langem Erhitzen. Eine Minute mehr oder weniger macht dabei, wie aus der Kurve hervorgeht bei Glucose, etwa 2 cm³ Jodlösung aus, was etwa 1,5 mg Glucose entspricht. Man wird sich also bestreben müssen, die vorgeschriebene Zeit möglichst genau einzuhalten, wobei aber einige Sekunden mehr oder weniger noch nicht ins Gewicht fallen.

Dass die Reduktion auch von der Menge des überschüssigen Reagens abhängt, ist früher ⁵⁾ gezeigt worden. Unter allerdings wesentlich andern Reaktionsbedingungen fand ich damals mit steigenden Mengen Barfoedlösung mit je 200 mg Glucose folgende Zunahme im Jodverbrauch:

20 cm³ Barfoedlösung + 40 cm³ Wasser + 20 cm³ Glucoselösung = 8,67 cm³ 0,05n -J
 40 cm³ Barfoedlösung + 20 cm³ Wasser + 20 cm³ Glucoselösung = 27,38 cm³ 0,05 n-J
 60 cm³ Barfoedlösung + 20 cm³ Glucoselösung = 47,64 cm³ 0,05n -J

Die Werte zeigen, dass ein grosser Überschuss an Reagens von vorneherein notwendig ist.

Steigende Glucosemengen ohne und mit Acetatpuffer

Von den vielen Arbeitsmöglichkeiten wählte ich folgende als endgültig. 5 cm³ Zuckerlösung werden mit 15 cm³ Barfoedlösung in einem geräumigen Reagensglas 10 Minuten im siedenden Wasserbad erhitzt von Beginn des Wiedersiedens an gerechnet. Man verbrauchte mit ungepuffert und gepuffert Lösung unter Verwendung von Glucose folgende Jodmengen:

Tabelle 4

mg Glucose	ungepuffert cc 0,02n-J	mg Glucose Faktor 0,89	Fehler	gepuffert cc 0,02n-J	mg Glucose Faktor 0,76	Fehler
2,5	2,47	2,20	- 0,30	3,30	2,51	+0,01
5	5,62	5,00	0	6,35	4,82	-0,18
10	11,29	10,05	+ 0,05	13,62	10,40	+0,4
15	14,57	13,00	- 2,0	19,77	15,0	0
20	17,38	15,45	- 4,55	23,64	18,1	-1,9
30	22,07	19,64	-10,36	—	—	—
40	24,57	21,87	-18,13	35,00	26,6	-13,4

Der Jodverbrauch ist bei der gepufferten Lösung erheblich grösser, als bei der ungepufferten.

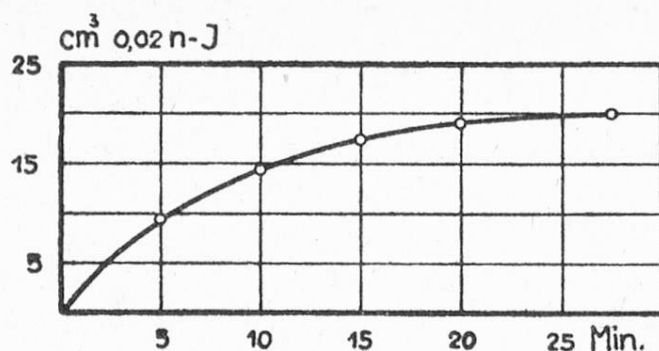


Abb. 3

Ich habe die Faktoren ausgerechnet, mit welchen die $\text{cm}^3 \text{ J}$ multipliziert werden müssen, um mg Glucose zu geben. Bei der ungepufferten Lösung ist der Faktor 0,89 (3. Kolonne), bei der gepufferten 0,76 (6. Kolonne). Multiplizieren wir damit wieder die Jodwerte, so erhalten wir ohne Pufferung nur bis zu 10 mg oder $11,3 \text{ cm}^3$ Jod richtige Werte, mit Pufferung hingegen bis 15 mg Zucker oder rund 20 cm^3 Jod, wie das auch die Abb. 3 zeigt. Die Pufferung hat also die gewünschte Wirkung ausgeübt, aber nur bis zu einem gewissen Zuckergehalt. Ob ein Zusatz von noch mehr Natriumacetat noch günstiger gewirkt hätte, ist nicht ausprobiert worden. Durch 15 mg Glucose ist nur etwa $\frac{1}{22}$ des vorhandenen Kupfers reduziert worden.

Die Pufferung der Barfoedlösung mit 10 mg Natriumacetat zum 1 wurde bei allen weiteren Bestimmungen angewendet.

Reduktion der Barfoedlösung durch Invertzucker

Die folgende Tabelle gibt den Jodverbrauch steigender Mengen Invertzucker an. (Siehe auch Abb. 3.)

Tabelle 5

Steigende Invertzuckermengen

mg Invertzucker	cc 0,02 n - J	Faktor	mg Inv. nach Tab. 6 ber.
2,5	2,95	0,850	2,98
2,5	2,89	0,862	2,95
5,0	7,50	0,667	5,08
5,0	7,28	0,686	4,84
10,0	15,41	0,649	9,98
10,0	15,41	0,667	9,98
15,0	21,49	0,698	15,35
15,0	20,93	0,716	14,76
20,0	26,27	0,761	20,0

Die Werte sind nicht sehr regelmässig. Sie lassen sich nicht wie bei der Glucose durch einen einheitlichen Faktor berechnen. Man muss eine Berechnungstabelle zu Hilfe nehmen. In der 4. Kolonne sind die nach Tab. 5 berechneten Werte wiedergegeben.

Tabelle 6
Berechnungstabelle für Invertzucker mit Barfoedlösung

cc 0,02 n-J	mg Invertzucker	cc 0,02 n-J	mg Invertzucker
3	2,5	15	9,7
4	3,0	16	10,4
5	3,6	17	11,2
6	4,2	18	12,1
7	4,8	19	13,0
8	5,4	20	13,9
9	6,05	21	14,85
10	6,7	22	15,8
11	7,35	23	16,75
12	7,95	24	17,75
13	8,55	25	18,75
14	9,1	26	19,75

Auch andere Monosaccharide als Glucose und Fructose sind nach *Barfoed* bestimmbar. Arabinose gibt beispielsweise Faktoren, die um 1 herum liegen.

Reduktion der Disaccharide nach Barfoed

Es ist notwendig, dass wir uns auch über die Reduktion der Disaccharide Rechnung geben. Da die *Barfoedlösung* schwach sauer ist, können wir vermuten, dass Saccharose zu einem kleinen Betrag invertiert wird und dann die Lösung reduziert. Da Lactose und Maltose bereits zu den reduzierenden Zuckern gehören, ist auch durch sie eine gewisse Reduktion zu gewärtigen.

Die ganz kleinen Werte sind bei der Reduktion nicht ganz zuverlässig. Man erhöhte daher die Reduktionswirkung durch Zusatz von 10 mg Glucose zu 100 mg Disaccharid und erhielt:

Tabelle 7

Je 10 mg Glucose +	cc 0,02 n-J	Zucker als Glucose	Disaccharid als Glucose
100 mg Saccharose	14,92	11,34	1,34
100 mg Lactose	15,92	12,20	2,20
100 mg Maltose	18,27	13,89	3,89

Als Glucose berechnet reduziert Saccharose 1,34, Lactose 2,20 und Maltose 3,89 ‰. Es sind daher bei der Untersuchung von Lebensmitteln entsprechende Korrekturen zu machen.

III. Bestimmung der Aldosen

Bereits vor 50 Jahren wies *Romijn* ⁶⁾ darauf hin, dass Aldosen im Gegensatz zu den Ketosen durch Hypojodit zu den entsprechenden Carbonsäuren oxydiert werden. Inzwischen ist von vielen Seiten über diese Methode gearbeitet worden. Besonders gründlich sind die Untersuchungen *Kolthoffs* ⁷⁾. Er gibt als Beispiel folgende Arbeitsweise an.

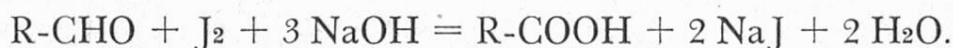
«Zu 10 cm³ der Zuckerlösung, die höchstens 1,1 ‰ Glucose enthalten darf, setzt man 25 cm³ 0,1n-Jodlösung und darauf unter Umschütteln 30 cm³ 0,1n-Lauge. Nach 3—10 Minuten langem Stehen im verschlossenen Gefäss säuert man mit verdünnter Schwefel- oder Salzsäure an und titriert den Jodüberschuss mit Thiosulfat zurück.»

Das Jod soll in doppeltem oder nahezu doppeltem Überschuss vorhanden sein. In dem Beispiel von *Kolthoff* ist es in 2,5-fachem Überschuss da. Um die bei den andern Zuckerbestimmungen verwendete 0,02n-Jodlösung auch hier benutzen zu können, habe ich die Konzentrationen etwas geändert, ohne jedoch das von *Kolthoff* als Optimum erkannte Verhältnis zwischen Zucker und Lauge zu ändern; den auf dieses Verhältnis kommt es sehr an. Ein zu geringer Überschuss genügt nicht, bei einem zu grossen ist Gefahr vorhanden, dass die verschiedenen Zuckerarten sich teilweise ineinander umgewandelt haben, bevor sie oxydiert sind, wie ja *Lobry de Bruyn* und *Alberda van Eckenstein* ⁸⁾ diese Umwandlung bei der Einwirkung von Alkali auf Zucker festgestellt haben.

Den von *Kolthoff* abweichenden Konzentrationsverhältnissen habe ich folgendermassen Rechnung getragen.

Man versetzt die Zuckerlösung, am besten 3—8 cm³, in einem 100-cm³-Erlenmeyerkolben mit Glasstopfen oder in einer Stöpselflasche mit 20 cm³ 0,02n-Jodlösung und gleich darauf unter Umschwenken mit 0,5 cm³ n-NaOH, verschliesst, lässt 3—5 Minuten im Dunkeln stehen, setzt 1 cm³ n-HCl zu und titriert den Überschuss an Jod zurück.

Die Reaktion verläuft stöchiometrisch nach der Formel:



1 cm³ 0,02n-Jod entspricht 1,8 mg Glucose oder 3,6 mg Lactose- oder Maltosehydrat oder, falls man Pentosen bestimmt, 1,5 mg Pentose.

Da die Methode bereits durch *Kolthoff* sehr gründlich durchgearbeitet worden ist, erübrigt sich die Angabe von viel Zahlenmaterial.

IV. Bestimmung der Fructose

Bereits *Kolthoff*⁷⁾ weist darauf hin, dass sich nach Oxydation der Aldosen durch Hypojodit sehr gut die Fructose bestimmen lässt, die einzige Ketose, die in Nahrungsmitteln nachgewiesen ist. Man muss aber in diesem Fall das Jod nicht mit Thiosulfat zurücktitrieren, weil sich dabei Tetrathionat bildet, welches Fehlinglösung verbraucht, sondern mit Sulfid in der sauren Lösung. Besonders eingehend ist die Fructosebestimmung von *Kruisheer*⁹⁾ bearbeitet worden.

Meine Arbeitsweise, welche sich ganz an diejenige von *Kolthoff* und *Kruisheer* anschliesst, aber unter Benützung der Jodtitration nach *Hadorn* und *von Fellenberg*, ist folgende:

Man wiederholt anschliessend an die Aldosenbestimmung die Oxydation mit Jod in alkalischer Lösung unter Verwendung von doppelt so viel Jodlösung, wie bei der Aldosenbestimmung verbraucht worden ist. Man kann auch, was bei sehr kleinen Fructosemengen zu empfehlen ist, eine entsprechende Menge 0,1n- statt 0,02n-Jodlösung verwenden. Man säuert auch hier wieder mit 1 cm³ n-HCl an und titriert das Jod mit einer frisch bereiteten etwa 2%igen Sulfidlösung zurück. Man kann statt dessen auch festes Natriumbisulfid sorgfältig in ganz kleinen Anteilen zugeben, bis die Jodfärbung eben verschwunden ist. Dann gibt man 1 Tropfen (nicht mehr) Stärkelösung zu und titriert mit Jod wieder bis zum Erscheinen des ersten blauen Schimmers. Nun neutralisiert man mit NaOH sorgfältig gegen Methylorange bis in die Nähe des Neutralpunktes, macht aber keinesfalls alkalisch. Wegen der puffernden Wirkung der aus dem Zucker entstandenen Säure erfolgt der Umschlag allmählig und kann gut beobachtet werden.

Die Lösung wird nun in der Regel in ein 50-cm³-Massklöbchen übergeführt und zur Marke aufgefüllt, worauf man in einem aliquoten Teil, meist in 20 cm³, den Zucker nach *Hadorn* und *von Fellenberg* bestimmt. Bei sehr kleinen Fructosemengen kann man auch, falls die Lösung weniger als 20 cm³ beträgt, diese in ein mit Marke versehenes Reagensglas übergiessen und nach Auffüllen auf 20 cm³ die ganze Menge zur Reduktion verwenden.

Durch Multiplikation der nach Abzug des Blindversuches verbrauchten cm³ 0,02n-Jodlösung mit 0,775 (Siehe Tab. 1) erhält man mg Fructose.

Bei der Glucose- und Fructosebestimmung nach der starken Inversion stören die entstandenen Zersetzungsprodukte. *Kolthoff* (1. c.) entfernt sie durch Schütteln der nahezu neutralisierten Lösung mit möglichst wenig Tierkohle. Ich gehe so vor, dass ich die braune Lösung mehrmals mit wenig Äther ausschüttele und die Ätherlösung mit einer Saugpipette entferne. Dann wird Methylorange zugesetzt, mit möglichst wenig Tierkohle geschüttelt, der Rest des Äther im Wasserbad entfernt, filtriert und mit Wasser bis zu einem bestimmten Volumen nachgewaschen. In einem bestimmten Teil der Lösung wird die noch vorhan-

dene Säure titriert. Dann wird die Glucose und die Fructose bestimmt, wobei man nach dem Jodzusatz ausser der vorgeschriebenen NaOH-Menge noch die zur Neutralisation benötigte zusetzt.

V. Anwendung der Trennungsv erfahren

Nach den beschriebenen Untersuchungsmethoden lassen sich eine ganze Reihe von Einzelbestimmungen ausführen, die teils zur Trennung der Zucker dienen, teils als Kontrolle willkommen sind. Theoretisch sind die folgenden Möglichkeiten gegeben, von denen aber nur einige wenige notwendig sind.

1. Vor der Inversion

- a) *Direkte Reduktion nach Hadorn und von Fellenberg.* Es reduzieren Glucose, Fructose, Lactose, Maltose. Die Berechnung erfolgt nach Tab. 1 je nach Umständen als Invertzucker, Glucose, Lactose oder Maltose.
- b) *Monosaccharide nach Barfoed.* Es reduzieren Glucose und Fructose, in ganz geringem Grade die Disaccharide (siehe Tab. 7). Die Berechnung erfolgt bei Glucose mit Faktor 0,76 bei Invertzucker nach Tab. 6.
- c) *Aldosen.* Es reduzieren Glucose, Lactose, Maltose. Die Berechnung erfolgt bei Glucose mit Faktor 1,8, bei Lactose- und Maltosehydrat mit Faktor 3,6.
- d) *Fructose.* Sie wird nach Tab. 1 mit Faktor 0,775 berechnet.

2. Schwache Inversion

- a) *Reduktion nach Hadorn und von Fellenberg.* Es reduzieren Glucose, Fructose, aus Saccharose entstandener Invertzucker, Lactose, Maltose, letztere beiden Zuckerarten nach Tab. 2 um 2,3% stärker, als vor der Inversion.
- c) *Aldosen.* Es reduzieren vorgebildete und aus Saccharose entstandene Glucose, ferner Lactose und Maltose, letztere beiden 2,3% stärker, als vor Inversion.
- d) *Fructose.* Es reduziert vorgebildete und aus Saccharose entstandene Fructose.

3. Starke Inversion

- a) *Reduktion nach Hadorn und von Fellenberg.* Es reagieren vorgebildete und aus Saccharose entstandene Glucose, ferner Lactose, Maltose und Dextrin als Glucose, ferner 78% der vorgebildeten und aus Saccharose, eventuell aus Polysacchariden (Trifruktosan, Inulin) entstandenen Fructose, ferner allfällige Pentosane als Pentosen.
- c) *Aldosen.* Es reagieren dieselben Zucker wie bei a, ausser Fructose.
- d) *Fructose.* Es reagieren 78% der vorgebildeten und durch Hydrolyse entstandenen Fructose.

Die Reaktion nach *Barfoed* wird nur vor der Inversion ausgeführt, weil dabei nur die vorgebildeten, nicht die durch Inversion entstandenen Monosaccharide von Interesse sind. Auch stören die bei der Inversion hinzugekommenen Chlorionen die Reaktion durch Ausfällen von Kupfer(I)-chlorid, somit durch Änderung der Konzentration der Kupferionen.

Die Faktoren, welche zu unsern Berechnungen benötigt werden, sind in Tab. 8 nochmals zusammengefasst.

Tabelle 8
Allgemeine Faktorentabelle

1 cc 0,02n-J entspricht nach <i>Hadorn</i> und <i>von Fellenberg</i>		Änderung durch <i>Inversion</i> in %	
		schwache Inversion	starke Inversion
Invertzucker	0,731	—	— 11
Glucose	0,687	—	—
Fructose	0,775	—	— 22
Saccharose	0,694	+100	— 11
Lactosehydrat	0,986	+ 2,3	+ 51,4
Maltosehydrat	1,200	+ 2,3	+ 88,9
Dextrin als Glucose		+ 2,7	+105

Bei der *Barfoed*reaktion entspricht $1 \text{ cm}^3 0,02\text{n-J} = 0,76 \text{ mg Glucose}$. Für Invertzucker ist Tab. 5 zu benutzen. Von den Disacchariden reduzieren

je 100 mg bei Saccharose wie 1,34 mg Glucose
Lactosehydrat wie 2,20 mg Glucose
Maltosehydrat wie 3,90 mg Glucose

Bei der Aldosenbestimmung entspricht $1 \text{ cm}^3 0,02\text{n-J} = 1,8 \text{ mg Glucose}$ oder 3,6 mg Lactose- oder Maltosehydrat.

Die Berechnung kann im einzelnen Fall verschieden vorgenommen werden. Sie lässt sich schwer in Formeln ausdrücken. Am besten verständlich dürfte es sein, sie an einigen Beispielen zu zeigen. Man sieht dann daraus auch gleich, dass man in der Regel mit einigen wenigen Bestimmungen auskommt.

1. Rohrzucker des Handels

Es handelte sich hier nur darum, die verschiedenen Methoden an einem einfachen Fall nachzuprüfen. Nach der schwachen Inversion fand man folgende Werte:

2 a) Reduktion nach *Hadorn* und *von Fellenberg*.

$10,5 \text{ mg Invertzucker} = 14,26 \text{ cm}^3 0,02\text{n-J}$. $0,731 = 10,42 \text{ mg}$
oder $104,2\%$ Invertzucker, ber. 105% .

2 b) *Monosaccharide*

10,5 mg Invertzucker = $16,15 \text{ cm}^3 \text{ J. } 0,66 = 10,66 \text{ mg}$
oder $106,6\%$ Invertzucker, ber. 105% .

2 c) *Glucose*

36,75 mg Invertzucker = $10,22 \text{ cm}^3 \text{ J. } 1,8 = 18,40 \text{ mg}$
oder $52,56\%$ Glucose, ber. $52,5\%$.

2 d) *Fructose*

14,7 mg Invertzucker = $9,95 \text{ cm}^3 \text{ J. } 0,775 = 7,70 \text{ mg}$
oder $54,85\%$ Fructose, ber. $52,5\%$.

Der Invertzucker nach *Barfoed* und die Fructose sind etwas zu hoch ausgefallen. Man könnte vermuten, dass ein wenig Glucose bei der kurzen Einwirkungsdauer der alkalischen Jodlösung sich der Oxydation entziehe und dann als Fructose bestimmt werde. Ein Versuch mit 18 mg Glucose ergab aber bei der Fructosebestimmung einen Wert, der den Blindversuch um nur $0,01 \text{ cm}^3$ Jod übertraf, also praktisch Null war.

2. *Milchschokolade*

Die Reinigung erfolgt mit Carrez-Lösung. Zu bestimmen sind Lactose und Saccharose. Es ist jedoch die Möglichkeit vorhanden, dass noch Invertzucker da ist. Dadurch würde der Lactosewert, aus der gewöhnlichen Reduktion berechnet, bedeutend erhöht. Aus Tab. 1 ergibt sich, dass 1 Teil Invertzucker $\frac{0,986}{0,731} = 1,35$ Teile Lactose vortäuscht.

Ob Invertzucker da ist, zeigt in diesem Fall ohne weiteres die Bestimmung der Monosaccharide nach *Barfoed*. Wir bestimmen daher folgende Werte:

1 a) *Reduktion nach Hadorn und von Fellenberg*

50 mg Schokolade = $5,54 \text{ cm}^3 \text{ J. } 0,986 = 5,46 \text{ mg} = 10,92\%$ als Lactosehydrat
oder $5,54 \text{ cm}^3 \text{ J. } 0,731 = 4,05 \text{ mg} = 8,10\%$ als Invertzucker

1 b) *Monosaccharide*

200 mg Schokolade = $0,92 \text{ cm}^3 \text{ J. } 0,687 = 0,63 \text{ mg} = 0,31\%$ als Glucose

1 c) *Aldosenbestimmung*

200 mg Schokolade = $5,94 \text{ cm}^3 \text{ J. } 3,8 = 21,4 \text{ mg} = 10,70\%$ Lactosehydrat

2 a) *Schwache Inversion*

25 mg Schokolade = $15,06 \text{ cm}^3 \text{ J. } 0,731 = 11,79 \text{ mg} = 44,71\%$ Invertzucker

Davon subtrahieren wir den Wert der direkten Reduktion als Invertzucker berechnet = $8,10\%$. Die Differenz, $36,66\%$ mit $0,95$ multipliziert gibt $34,83\%$ Saccharose.

Nach *Barfoed* finden wir nahezu Null; somit ist kein Invertzucker vorhanden und der Wert der direkten Reduktion rührt allein von Lactose her. Dass es wirklich Lactose und nicht etwa Maltose ist, geht ausser aus der Beschaffenheit des Produkts mit Sicherheit daraus hervor, dass der Wert der Aldosenbestimmung mit der direkten Reduktion, als Lactose berechnet, übereinstimmt. Als Maltose berechnet würde man 13,3% gegenüber 10,7 bei der Aldosenbestimmung erhalten.

Wir finden somit in der Milkschokolade 10,8% *Lactosehydrat* und 34,8% *Saccharose*.

Wenn es auf grösste Genauigkeit ankommt, sind allerdings noch kleine Korrekturen anzubringen. Für jedes % Saccharose sind vom Lactosewert 0,009% abzuziehen⁸⁾, da Saccharose selbst in diesem Ausmass reduziert. Es sind somit von dem durch direkte Reduktion gefundenen Wert 0,30% abzuziehen. Es bleiben 10,62% in guter Übereinstimmung mit den durch die Aldosenbestimmung gefundenen 10,70%.

An dem Saccharosewert ist auch noch eine kleine Korrektur anzubringen, und zwar wegen der Erhöhung des Lactosewertes durch die schwache Inversion nach 2 a) (siehe Tab. 2). Sie beträgt 2,3 mg für 100 mg Lactosehydrat als Glucose oder 3,1 mg als Lactosehydrat, für 10,9% Lactose also 0,34%, so dass der korrigierte Saccharosewert $34,83 - 0,34 = 34,5\%$ beträgt.

Die Milkschokolade enthält somit 10,7% *Lactosehydrat* und 34,5% *Saccharose*.

3. Kakaoersatz

Ein viel Schleimstoffe enthaltendes Präparat, welches Trockenmilch und Zucker enthalten soll. Mit Carrez-Lösung gelang es hier wie in allen andern Fällen, ein gut filtrierbares, klares Filtrat zu erhalten.

1 a) Direkte Inversion

$$50 \text{ mg Material} = 9,55 \text{ cm}^3 \text{ J. } 0,986 = 9,40 \text{ mg} = 18,80\% \text{ als Lactosehydrat}$$

$$9,55 \text{ cm}^3 \text{ J. } 0,731 = 6,98 \text{ mg} = 13,96\% \text{ als Invertzucker}$$

1 c) Aldosen

$$200 \text{ mg Material} = 10,38 \text{ cm}^3 \text{ J. } 3,6 = 37,36 \text{ mg} = 18,68\% \text{ als Lactosehydrat}$$

2 a) Schwache Inversion

$$50 \text{ mg Material} = 11,98 \text{ cm}^3 \text{ J. } 0,731 = 8,76 \text{ mg} = 17,52\% \text{ als Invertzucker}$$

Wir subtrahieren davon den Wert der direkten Reduktion als Invertzucker = 13,96% und multiplizieren die Differenz mit 0,95 und erhalten so 3,38% Saccharose.

Die gute Übereinstimmung des Lactosewertes der direkten Reduktion und der Aldosenbestimmung zeigt, dass es sich auch hier um reine Lactose handelt und dass weder Invertzucker, noch Glucose da ist. Es sind somit 18,8% *Lactosehydrat* und 3,4% *Saccharose* vorhanden.

4. Säuglingsnahrung

1 a) Direkte Reduktion

500 mg Material = $4,60 \text{ cm}^3 \text{ J. } 0,731 = 3,36 \text{ mg} = 0,67 \% \text{ Invertzucker}$

2 a) Schwache Inversion

50 mg Material = $14,70 \text{ cm}^3 \text{ J. } 0,731 = 10,73 \text{ mg} = 21,43 \% \text{ Invertzucker}$
Daraus berechnet sich der Saccharosegehalt zu $(21,43 - 0,67) \cdot 0,95 = 19,75 \% \text{ Saccharose}$.

Eine weitere Zuckerart ist nicht vorhanden. Das Präparat besteht nur aus Weissmehl und Zucker.

5. Kindernährmilch, getrocknet

1 a) Direkte Reduktion

50 mg Material = $12,16 \text{ cm}^3 \text{ J. } 0,731 = 8,731 = 17,78 \% \text{ als Invertzucker}$
 $\cdot 0,986 = 11,99 \text{ mg} = 23,98 \% \text{ als Lactosehydrat}$

1 b) Monosaccharide nach Barfoed

250 mg Material = $3,0 \text{ cm}^3 \text{ J. } 0,85 = 2,55 \text{ mg} = 1,02 \% \text{ Invertzucker}$

1 c) Aldosen

150 mg = $9,80 \text{ cm}^3 \text{ J. } 3,6 = 35,28 \text{ mg} = 23,52 \% \text{ Lactosehydrat}$

2 a) Schwache Inversion

37,5 mg Material = $18,79 \text{ cm}^3 \text{ J. } 0,731 = 13,74 \text{ mg} = 36,63 \% \text{ Invertzucker}$
 $17,78$

 $18,85 \cdot 0,95 = 17,91 \% \text{ Saccharose}$

Der Lactosewert der direkten Reduktion stimmt mit demjenigen der Aldosenbestimmung gut überein, was beweist, dass keine weiteren direkt reduzierenden Kohlenhydrate ausser Lactose vorhanden sind, wie dies ja auch aus der Abwesenheit von Monosacchariden nach *Barfoed* hervorgeht. Das Präparat enthält $23,8 \% \text{ Lactose}$ und $17,9 \% \text{ Saccharose}$.

6. Birnenkonzentrat mit Magermilchpulver

1 a) Direkte Reduktion

30 mg Konzentrat = $16,79 \text{ cm}^3 \text{ J. } 0,731 = 12,26 \text{ mg} = 40 \% \text{ als Invertzucker}$

1 b) Monosaccharide nach Barfoed

30 mg Konzentrat = $8,32 \text{ cm}^3 \text{ J. } 0,68 = 5,66 \text{ mg} = 18,86 \% \text{ als Invertzucker}$
 $\cdot 0,76 = 6,32 \text{ mg} = 20,74 \% \text{ als Glucose}$

1 c) *Aldosen*

$$75 \text{ mg Konzentrat} = 10,58 \text{ cm}^3 \text{ J. } 1,8 = 19,04 \text{ mg} = 25,39 \% \text{ als Glucose} \\ \cdot 3,6 = 38,08 \text{ mg} = 50,78 \% \text{ als Lactosehydrat}$$

1 d) *Fructose*

$$30 \text{ mg Konzentrat} = 5,24 \text{ cm}^3 \text{ J. } 0,775 = 4,05 \text{ mg} = 13,50 \% \text{ Fructose}$$

2 a) *Schwache Inversion*

$$30 \text{ mg Konzentrat} = 17,87 \text{ cm}^3 \text{ J. } 0,731 = 13,07 \text{ mg} \\ 43,57 \% \text{ als Invertzucker} \\ 40,87 \\ \hline 2,70 \cdot 0,95 = 2,65 \% \text{ Saccharose}$$

Berechnung. Die Differenz zwischen der direkten Reduktion und der Reduktion nach *Barfoed* entspricht der Lactose. Wir verzichten auf eine kleine Korrektur, die wegen der Reduktion der Lactose am *Barfoedwert* anzubringen wäre. Die Differenz zwischen Aldosen als Lactose berechnet und dem gefundenen Lactosegehalt gibt Glucose als Lactose, die durch Division durch 2 in Glucose umgerechnet wird. Wir haben also:

Roh-Invertzucker	40,87	
Invertzucker nach <i>Barfoed</i>	18,86	
	<hr/>	
	22,01	$\cdot \frac{0,986}{0,731} = 29,68 \% \text{ Lactosehydrat}$
Aldosen als Lactose	50,78	
Lactose (ber.)	29,68	
	<hr/>	
	21,10	$: 2 = 10,55 \% \text{ Glucose}$

Somit enthält das Präparat:

$$2,65 \% \text{ Saccharose} \\ 29,68 \% \text{ Lactosehydrat} \\ 10,55 \% \text{ Glucose} \\ 13,50 \% \text{ Fructose}$$

Der bedeutende Überschuss an Fructose gegenüber Glucose ist für Birnensaft charakteristisch.

7. Saft aus *Topinambourknollen*

Bekanntlich bestehen die Kohlenhydrate der *Topinambourknollen* grossenteils aus Inulin, einem aus Fructosemolekülen aufgebauten Polysaccharid.

Die Knollen wurden am 20. März geerntet. Sie wurden geraspelt, gepresst und der Saft zentrifugiert. Zur Untersuchung verdünnte man den Saft auf ein bestimmtes Volumen und verwendete aliquote Teile der Verdünnung. Ausser den Kohlenhydraten wurden auch der Wassergehalt, die Asche und die Protein-
stoffe bestimmt, um eine Bilanz aufstellen zu können.

1 a) *Direkte Reduktion vor Inversion*

$$3157 \text{ mg Saft} = 5,63 \text{ cm}^3 \text{ J. } 0,731 = 4,35 \text{ mg} = 0,14 \% \text{ als Invertzucker}$$

2 a) *Reduktion nach schwacher Inversion*

$$158 \text{ mg Saft} = 19,50 \text{ cm}^3 \text{ J. } 0,687 = 13,38 \text{ mg} = 8,50 \% \text{ als Glucose}$$

$$. 0,775 = 15,11 \text{ mg} = 9,56 \% \text{ als Fructose}$$

2 c) *Aldosen nach schwacher Inversion*

$$632 \text{ mg Saft} = 6,19 \text{ cm}^3 \text{ J. } 1,8 = 11,03 \text{ mg} = 1,75 \% \text{ als Glucose}$$

2 d) *Fructose nach schwacher Inversion*

$$126 \text{ mg Saft} = 12,55 \text{ cm}^3 \text{ J. } 0,775 = 9,73 = 7,73 \% \text{ als Fructose}$$

3 a) *Reduktion nach starker Inversion*

$$39,45 \text{ mg Saft} = 7,95 \text{ cm}^3 \text{ J. } 0,775 = 6,16 \text{ mg} = 16,60 \% \text{ als Fructose}$$

3 c) *Glucose nach starker Inversion*

$$315,6 \text{ mg Saft} = 9,69 \text{ cm}^3 \text{ J. } 1,8 = 17,44 \text{ mg} = 5,52 \% \text{ als Glucose}$$

Berechnung. Die Saccharose können wir nicht nach der Formel (2a—1a) . 95 berechnen, da viel zu wenig Glucose da ist. Sie ergibt sich durch Verdopplung der Glucose nach 2c) und Multiplikation mit 0,95. Wir finden so $(2 \cdot 1,75) \cdot 0,95 = 3,33 \% \text{ Saccharose}$.

Die Restreduktion nach derschwachen Inversion von $8,50 - 1,75 = 6,75 \% \text{ als Glucose}$ oder $6,75 \cdot \frac{0,775}{0,687} = 7,62 \% \text{ als Fructose}$ stimmt mit der nach 2d) gefundenen Fructose, $7,70 \% \text{ gut überein}$.

Nach der starken Inversion haben wir $16,60 \% \text{ als Fructose}$. Davon ist die Glucose, die nach 3c) gefunden worden ist, als Fructose abzuziehen. Es ist dies $5,52 \cdot \frac{0,775}{0,687} = 6,22 \% \text{. Nach Abzug dieses Betrags bleiben } 10,40 \% \text{ Fructose. Da bei der starken Inversion } 22 \% \text{ der Fructose zerstört werden, ist der wahre Gehalt } \frac{10,40}{0,78} \text{ Fructose oder } 0,9 \text{ mal so viel Inulin. Wir kommen so auf } 12 \% \text{ Inulin.}$

Nach der starken Inversion sind 5,52% Glucose gefunden worden gegenüber 1,75 nach der schwachen Inversion. Durch Multiplikation dieser Differenz mit 0,9 ergibt sich der Gehalt an Dextrin. Es sind 3% *Dextrin* da.

Die *Bilanz* des Topinamboursaftes ergibt:

Invertzucker	0,14
Saccharose	3,33
Inulin	12,00
Dextrin	3,00
Asche	0,78
Protein	2,23
Wasser	77,15
Summe	98,63 %

8. Malzpräparat

Um die Darstellung zu vereinfachen, werden nur noch die Resultate der einzelnen Bestimmungen in % angegeben.

1 a) <i>Direkte Reduktion</i>	40,16 % als Invertzucker
1 b) <i>Monosaccharide nach Barfoed</i>	11,18 % als Invertzucker
	30,96 % als Glucose
	oder 61,92 % als Maltose
1 d) <i>Fructose</i>	5,19 %
2 a) <i>Reduktion nach schwacher Inversion</i>	43,64 % Invertzucker
	40,16 %
	$3,58 \cdot 0,95 = 3,40$ % Saccharose
2 c) <i>Aldosen nach schwacher Inversion</i>	32,00 % als Glucose
2 d) <i>Fructose nach schwacher Inversion</i>	4,12 % Fructose
3 a) <i>Reduktion nach starker Inversion</i>	73,03 % Glucose
3 c) <i>Aldosen nach starker Inversion</i>	65,32 % Glucose
3 d) <i>Fructose nach starker Inversion</i>	5,89 % Fructose, korr.

Berechnung. Die Monosaccharide nach *Barfoed* betragen 11,18%, als Invertzucker berechnet. Auf einen ähnlichen, etwas niedrigeren Wert kommen wir durch Verdoppelung der Fructose, nämlich auf 10,38%. Dieser Wert verdient mehr Beachtung, weil die *Barfoed*-bestimmung durch vorhandene Maltose etwas erhöht wird.

Wenn wir nun den Invertzucker von der direkten Reduktion abziehen, bleiben $40,16 - 10,38 = 29,78\%$ Maltose als Invertzucker. Durch Multiplikation mit $\frac{1,2}{0,731}$ ergeben sich daraus $48,9\%$ *Maltosehydrat*.

Wir können die Maltose zur Kontrolle auch aus der Aldosenbestimmung berechnen. Wir setzen für die Glucose den gleichen Wert wie für Fructose, $5,19\%$ und ziehen ihn vom Aldosenwert, berechnet als Glucose ab und finden so $30,96 - 5,19 = 25,77\%$ Maltose als Glucose oder durch Verdoppelung $51,54\%$ *Maltosehydrat* in befriedigender Übereinstimmung mit den vorhin berechneten $49,9\%$. Wir können den Mittelwert nehmen und haben dann $50,27\%$ *Maltose*.

Man könnte sich fragen, ob die direkte Reduktion neben dem Invertzucker wirklich Maltose ist und nicht etwa Lactose, die ja ebenfalls direkt reduziert. Um Maltosehydrat in Lactosehydrat umzurechnen, müssen wir sie mit $\frac{0,986}{1,2}$ multiplizieren und finden dann $40,16\%$ Lactose. Dieser Wert ist bedeutend niedriger, als der aus der Aldosenbestimmung berechnete, der ja für Lactose gleich wie für Maltose $51,54\%$ beträgt. Somit ist die Anwesenheit von Lactose ausgeschlossen.

Die starke Inversion gibt einen Gehalt von $73,03\%$ als Glucose berechnet. Darin sind $4,12\%$ Fructose (unkorr.) enthalten, was auf Glucose umgerechnet $4,12 \cdot \frac{0,687}{0,775} = 3,65\%$ ausmacht. Wir ziehen dies von den $73,03\%$ ab und erhalten $69,38\%$ Glucose. Darin sind inbegriffen die gefundenen $50,27\%$ Maltose sowie der Glucoseanteil des Invertzuckers, also $3,58/2 = 1,79\%$. Ziehen wir diese beiden Beträge ab, so bleiben $69,38 - (50,27 + 1,79) = 17,32\%$ überschüssige Glucose, die, mit $0,95$ multipliziert, das vorhandene Dextrin ergibt. Wir finden so $16,45\%$ *Dextrin*.

Als Saccharose haben wir einen vorläufigen Wert von $3,4\%$, entsprechend $3,58\%$ Invertzucker gefunden. An diesem Wert müssen wir nun noch 2 Korrekturen anbringen. Durch die schwache Inversion wird die Maltose etwas hydrolysiert und zwar erhöht sich ihr Reduktionswert um $2,3\%$ als Glucose. Auf die vorhandenen 50% Maltose macht das $1,15\%$ als Glucose oder $\frac{0,731}{0,687}$ mal mehr, also $1,23\%$ als Invertzucker aus. Ebenfalls wird Dextrin um eine Kleinigkeit angegriffen. Die Erhöhung entspricht etwa $2,7\%$ oder auf $15,6\%$ Dextrin $0,38\%$. Wenn wir diese beiden Beträge abziehen, finden wir $3,58 - (1,23 + 0,38) \cdot 0,95 = 1,87\%$ *Saccharose*.

Der Fructosewert ist nach der starken Inversion um $0,7\%$ höher, als nach der schwachen Inversion. Im Roggen ist nach *Tillmanns*¹¹⁾ ein Trifruktosan enthalten. Ich habe dieses Kohlenhydrat auch im Weizen vorgefunden¹²⁾ und auch

aus Malzextrakt konnte ich durch fraktionierte Alkoholfällung Fraktionen erhalten, die reich an Fructose waren, so dass die Anwesenheit von Trifruktosan auch hier wahrscheinlich ist. Die 0,7 % erst durch starke Inversion abgespaltene Fructose würde 0,65 % Trifruktosan entsprechen.

Wir haben schliesslich in unserm Malzpräparat:

Invertzucker	10,38
Saccharose	1,87
Maltose	50,27
Dextrin	16,45
Trifruktosan	0,65

9. Flüssiger Malzextrakt

Die Reinigung geschieht mit je 1,5 cm³ Carrez-Lösung I und II auf 3 g Extrakt.

1 a) Direkte Reduktion	40,99 % als Invertzucker
1 b) Monosaccharide nach Barfoed	13,93 % als Glucose
1 c) Aldosen	33,12 % als Glucose
1 d) Fructose	5,66 %
2 a) Reduktion nach schwacher Inversion	42,27 % als Invertzucker
3 a) Reduktion nach starker Inversion	77,77 % als Glucose
3 d) Fructose nach starker Inversion direkt gefunden 4,6 korrigiert durch Multiplikation mit $\frac{1}{0,78}$	5,90 %

Berechnung. Für die Saccharosebestimmung subtrahieren wir zunächst 1a) von 2a) und erhalten: $42,27 - 40,99 = 1,28$ % als Invertzucker. Davon ist die Vermehrung der Reduktion abzuziehen, die durch Maltose und Dextrin durch die schwache Inversion bewirkt wird. Wir nehmen dabei Maltosehydrat zu 41 und Dextrin zu 17 % an und haben

für Maltose	$0,023 \cdot 41 = 0,94$
für Dextrin	$0,027 \cdot 17 = 0,46$
	1,40 %

Dieser Abzug macht bereits 0,12 % mehr aus, als die gefundene Vermehrung. Somit ist *Saccharose nicht vorhanden*.

Die Monosaccharide nach Barfoed (1 b) geben 13,93 %. Davon sind 3,9 % des vorhandenen Maltosehydrats, also $0,039 \cdot 41 = 1,70$ % wegen dessen Reduktion abzuziehen. Es bleiben 2,23 % *Glucose*.

Wir ziehen nun diesen Betrag von den nach 1c) gefundenen Aldosen ab. Es bleiben $33,12 - 12,23 = 20,89\%$. Diese Differenz gibt, mit 2 multipliziert, $41,78\%$ Maltosehydrat oder nach Multiplikation mit 0,95 $39,69\%$ wasserfreie Maltose. Wir müssen die Maltose hier als wasserfrei berechnen, weil wir eine Bilanz aufstellen wollen, bei welcher das Wasser besonders aufgeführt wird.

Die Fructose ist nach der starken Inversion um $0,24\%$ höher, als die direkt gefundene. Das deutet auf Spuren von Fructosen hin, kann aber, da nahezu in- nert der Fehlergrenze, vernachlässigt werden.

Die starke Inversion 3a) gibt $65,00\%$ als Glucose. Ziehen wir davon den Fructosewert vor der Korrektur, $4,6$, umgerechnet in Glucose = $4,07\%$ ab, so bleiben $60,93\%$ als Glucose. Nach Abzug der gefundenen $12,23\%$ Glucose bleiben $48,70\%$. Ziehen wir weiter Maltosehydrat ab, welchem ja dieselbe Menge Glucose entspricht, so bleiben für Dextrin $8,57\%$ als Glucose. Wie wir gesehen haben, müssen wir nicht den theoretischen Umrechnungsfaktor 0,9, sondern den praktisch gefundenen 0,95 zur Umrechnung verwenden. Wir finden dann $8,57\%$ Dextrin.

In dem Malzextrakt sind auch Wasser, Asche und Protein bestimmt worden, so dass wir versuchen können, eine Bilanz aufzustellen. Sie lautet:

Wasser	23,12 %
Asche	1,42
Protein	4,42
Glucose	12,23
Fructose	5,66
Saccharose	0
Maltose, wasserfrei	39,69
Dextrin	8,57
	<hr/>
	95,11

Die Summe der Komponenten beträgt nur 95% . Das Resultat ist nicht sehr befriedigend. Bei so komplizierten Mischungen, wie sie im Malzextrakt vorliegen, treten offenbar gewisse Störungen auf. Die Hydrolyse des Dextrins bei der starken Inversion ist in Gegenwart der vielen Maltose und Glucose wahrscheinlich geringer, als nach der Berechnung. Vielleicht sind auch gewisse schwer hydrolysierbare Dextrine vorhanden, die mit den 4 untersuchten Dextrinen nicht identisch sind.

Zusammenfassung der Methode

a) Titrimetrische Zuckerbestimmung nach Hadorn und von Fellenberg.

Die Vorbereitung der Zuckerlösung geschieht am besten mit Carrez-Lösung. 5—6 g Material werden in Wasser gelöst, mit je $1,5\text{ cm}^3$ Carrez-Lösung I und II versetzt, zu 100 cm^3 verdünnt und filtriert.

Reagentien: Fehlinglösung I und II nach Lebensmittelbuch.

HCl-NaCl-Lösung, bereitet durch Versetzen von 800 cm³ gesättigter Kochsalzlösung in einem 1000-cm³-Messzylinder mit 57 cm³ konz. HCl und Verdünnen mit Wasser zum Liter.

Bicarbonat-Seignettesalzlösung, durch kaltes Auflösen von 8 g Natriumbicarbonat und 5 g Seignettesalz zu 100 cm³. Die Lösung ist meist nur wenige Wochen haltbar und schimmelt dann. Es schadet nichts, wenn das Bicarbonat anfänglich nicht vollständig gelöst ist.

0,02n-Jodlösung, 0,02n-Thiosulfatlösung.

Die Zuckerlösung, die am besten so bemessen ist, dass sie einem Jodverbrauch von 5—20 cm³ 0,02n-Jod entspricht, wird in das Reagensglas (20/160 mm) einpipettiert und mit Wasser auf 20 cm³ ergänzt. Man setzt 5 cm³ Fehlinglösung (frische Mischung von I und II) zu, stellt das Reagensglas in ein siedendes Wasserbad und erhitzt, falls das Sieden nicht unterbrochen wird, 7 Minuten. Falls bis zum Wiederbeginn des Siedens 3—5 Minuten verstreichen, genügen 5 Minuten. Ein etwas längeres Erhitzen ist ohne Einfluss.

Man kühlt das Reagensglas unter fließendem Wasser ab und zentrifugiert 5 Minuten in einer Gerberzentrifuge. Eine Kautschukplatte am Boden der Trägerhülse verhindert den Bruch des Reagensglases. Nach dem Zentrifugieren giesst man die überstehende Flüssigkeit sorgfältig, aber in einem Guss ab, indem man Sorge trägt, dass kein Kupfer(I)-oxyd mitgerissen wird. Eher lässt man einige Tropfen Flüssigkeit im Glas. Man verdrängt nun die Luft durch CO₂, fügt je nach der Menge des Niederschlags 1—2 cm³ NaCl-HCl-Lösung zu und schüttelt kurz um, wobei sich das Cu₂O auflöst. Man setzt nun sofort die doppelte Menge Bicarbonat-Seignettelösung zu und beginnt mit der Jodtitration. Es wird Jod unter Umschwenken zugesetzt, bis sich die bei grössern Zuckermengen anfangs entstehende weissliche Fällung von Kupfer(I)-oxyd wieder vollständig gelöst hat und bis eine grüne Färbung aufgetreten ist. Das Jod muss also in deutlichem Überschuss zugesetzt werden. Die grüne Färbung soll der einer Fehling'schen Kupferlösung entsprechen, welcher man auf 20 cm³ die Menge von 0,5 cm³ 0,0n-Jod zugesetzt hat.

Man fügt nun einen Tropfen Stärkelösung zu und nimmt den Überschuss an Jod durch Titration mit wenig überschüssigem Thiosulfat wieder weg. Nun titriert man mit der Jodlösung wieder auf Dunkelblau.

Bei grössern Mengen ist das Titrieren in den Reagensgläsern nicht mehr bequem. Man giesst dann die Flüssigkeit nach Zusatz der Hauptmenge der Jodlösung in einen Erlenmeyerkolben und titriert darin zu Ende.

Berechnung. Vom Jodverbrauch wird der Betrag eines Blindversuchs abgezogen, der mit Wasser und Fehlinglösung allein erhalten wird. Der verbleibende Rest wird durch Multiplikation mit dem geeigneten Faktor in Zucker umgerechnet.

1 cm³ 0,02n-Jod entspricht den in Tab. 8 angegebenen Zuckermengen.

b) Bestimmung der Monosaccharide

Reagens. Lösung nach *Barfoed*: 25 g Kupfer(II)-acetat + H₂O, 3 cm³ Eisessig und 10 g Natriumacetat + 3H₂O zum 1. Da sich das Kupferacetat sehr schwer löst, verreibt man es mit wenig Wasser in einer grossen Reibschale, giesst Flüssigkeit ab und wiederholt das Verreiben so oft mit neuem Wasser, bis das Salz vollständig gelöst ist. Nach Zusatz der übrigen Reagentien erwärmt man nahezu zum Siedepunkt, kühlt ab und füllt zum Volumen auf.

Für die Bestimmung werden 5 cm³ Zuckerlösung in einem Reagensglas (20/160 mm) mit 15 cm³ Reagens versetzt, in ein siedendes Wasserbad gestellt und nach Wiederbeginn des Siedens genau 10 Minuten erhitzt. Die Zeit ist peinlich genau einzuhalten. Man fährt nun fort, wie unter a) angegeben.

1 cm³ 0,02n-Jod entspricht 0,76 mg Glucose. Für Invertzucker ist Tab, 5 anzuwenden.

Von den Disacchariden reduzieren je 100 mg

bei Saccharose gleich wie	1,3 mg Glucose
bei Lactosehydrat gleich wie	2,2 mg Glucose
bei Maltosehydrat gleich wie	3,9 mg Glucose

c) Bestimmung der Aldosen

Man versetzt die Zuckerlösung, am besten 3—8 cm³, in einem 100-cm³-Erlenmeyerkolben mit Glasstopfen oder in einer Stöpselflasche mit 20 cm³ 0,02n-Jodlösung und gleich darauf unter Umschwenken mit 0,5 cm³ n-NaOH, verschliesst, lässt 3—5 Minuten im Dunkeln stehen, setzt 1 cm³ n-HCl zu und titriert den Überschuss an Jod zurück. Es muss mindestens die Hälfte des Jods zurücktitriert werden; sonst ist der Versuch mit weniger Zuckerlösung zu wiederholen.

1 cm³ 0,02n-Jod entspricht 1,8 mg Glucose oder 3,6 mg Lactose- oder Maltosehydrat.

d) Bestimmung der Fructose

Man wiederholt anschliessend an die Aldosenbestimmung die Oxydation mit Jod in alkalischer Lösung unter doppelt so viel Jodlösung wie bei der Aldosenbestimmung verbraucht worden ist. Falls bei kleinen Fructosegehalten mehr als 8 cm³ Zuckerlösung verwendet wird, empfiehlt es sich, 0,1n-Jodlösung statt der 0,02 normalen zu benutzen. Man säuert auch hier wieder nach 3—5 Minuten langem Stehen im Dunkeln mit 1 cm³ n-HCl an, titriert aber das Jod nicht mit Thiosulfatlösung zurück, da sich dabei Tetrathionat bildet, welches Fehlinglösung verbraucht, sondern man bindet das Jod durch Zugabe von festem Natriumbisulfat in ganz geringen Gaben, gibt nun einen Tropfen Stärkelösung (nicht mehr) hinzu und titriert sorgfältig mit Jod bis zum ersten blauen Schimmer. Nun neutralisiert man mit NaOH sorgfältig gegen Methylorange bis in

die Nähe des Neutralpunktes, macht aber nicht alkalisch. Der Umschlag erfolgt allmählich und kann gut beobachtet werden.

Die Lösung wird nun in der Regel in ein 50-cm³-Kölbchen übergeführt und zur Marke aufgefüllt, wonach man mit 20 cm³ der Lösung den Zucker nach *Hadorn* und *von Fellenberg* bestimmt. Bei kleinen Fructosemengen kann man auch, falls die Lösung weniger als 20 cm³ beträgt, diese in ein mit Marke versehenes Reagensglas übergießen und nach Auffüllen auf 20 cm³ die ganze Menge zur Reduktion verwenden.

1 cm³ 0,02n-Jod = 0,775 mg Fructose.

Da nach der starken Inversion die entstandenen braunen Zersetzungsprodukte bei der Aldosen- und Fructosebestimmung stören, wird die Lösung mehrmals mit etwas Äther ausgeschüttelt und die Ätherlösung mit einer Saugpipette entfernt. Man neutralisiert nun gegen Methylorgane nahezu, fügt möglichst wenig Tierkohle hinzu, entfernt den Rest des Äthers im Wasserbad, filtriert und wäscht bis zu einem bestimmten Volumen nach. In einem bestimmten Teil der Lösung wird noch vorhandene Säure titriert. Dann werden die Glucose und die Fructose bestimmt, wobei man nach dem Jodzusatz ausser der vorgeschriebenen NaOH-Menge noch die zur Neutralisation benötigte zusetzt.

Schwache Inversion

Sie geschieht durch 30 Minuten langes Erhitzen von 50 cm³ Zuckerlösung mit 1 cm³ n-HCl im siedenden Wasserbad. Man kann auch kleinere Mengen im Reagensglas invertieren, wobei ein Trichterchen auf das Reagensglas gesetzt wird.

Starke Inversion

Sie geschieht durch 45 Minuten langes Erhitzen von 50 cm³ Zuckerlösung mit 25 cm³ 3n-HCl, also in normal salzsaurer Lösung nach *Th. von Fellenberg*. Man kann auch hier viel kleinere Mengen im Reagensglas invertieren, beispielsweise die Menge, welche man für eine Bestimmung braucht.

Bei der Neutralisation der invertierten Lösung verfähre man sehr sorgfältig, um alkalische Reaktion zu vermeiden. Es empfiehlt sich, erst nach Zugabe der Fehlinglösung die der HCl entsprechende Menge n-NaOH zuzufügen, wonach das Gesamtvolumen 25 cm³ betragen muss.

Es ergeben sich durch Kombination dieser Verfahren eine Reihe von Bestimmungsmöglichkeiten, die im Abschnitt V angegeben sind. Man wählt im einzelnen Fall die Passenden aus. Die Übrigen können in gewissen Fällen zur Kontrolle benützt werden.

Bezüglich der möglichen Einzelbestimmungen wird auf Abschnitt V verwiesen.

Die anzuwendenden Methoden richten sich im Einzelfall nach dem Material. Handelt es sich beispielsweise um ein Produkt, welches Milch neben Saccharose oder Invertzucker oder Glucose enthalten kann, so bestimmt man zunächst die direkte Reduktion 1a). Ferner bestimmt man die Monosaccharide 1b). Findet man nahezu Null Monosaccharide, so sind Glucose und Invertzucker ausgeschlossen und man hat es nur mit Lactose und Saccharose zu tun, welche letztere nach der schwachen Inversion unter 2a) bestimmt wird.

Findet man nach 1b) eine erhebliche Reduktion, welche nur von Glucose oder Invertzucker herrühren kann, so bestimmt man weiter die Aldosen 1c) und die Fructose 1d). Ist Fructose nicht vorhanden, so bestehen die Monosaccharide nur aus Glucose. Man berechnet in diesem Fall die Monosaccharide auf Glucose, zieht sie von 1a), berechnet als Glucose, ab und rechnet die Differenz durch Multiplikation mit $\frac{0,986}{0,687}$ in Lactosehydrat um.

Andererseits werden die Aldosen als Glucose berechnet, davon der Glucosewert nach 1b) abgezogen und die Differenz durch Multiplikation mit 2 in Lactosehydrat umgerechnet. Stimmt der so gefundene Wert mit dem aus 1a) und 1b) gefundene Lactosehydrat überein, so ist das ein Beweis, dass tatsächlich Lactose vorliegt. Wäre beispielsweise Maltose zugegen statt Lactose, so würde nach 1a) und 1b) ein Mehrwert von $\frac{1,2}{0,986}$ gegenüber der nach 1c) gefundenen Lactose resultieren. Es wären dann übrigens auch Dextrine vorhanden, da Maltose, stamme sie nun von Stärkesirup oder von Malzextrakt, stets Glucose und Dextrin enthält.

Wenn nach 1d) auch Fructose gefunden worden ist, so subtrahiert man diese von den Monosacchariden und erhält als Differenz Glucose. Von 1a) werden beide Zucker abgezogen und die Differenz in Lactosehydrat umgerechnet. Von den Aldosen 1c), als Glucose berechnet zieht man den Glucosewert ab und berechnet aus der Differenz durch Verdopplung die Lactose, die wiederum mit dem nach 1a) und 1b) gefundenen Wert übereinstimmen muss.

Bei diesen Rechnungen ist stets darauf zu achten, dass man Gleiches von Gleichem subtrahiert, dass man, was mit Hilfe der gegebenen Faktoren leicht ist, stets vor den Subtraktionen die Werte auf den gleichen Zucker umrechnet.

Es ist nun noch nicht darauf Rücksicht genommen, dass die Disaccharide nach 1b) eine kleine Reduktion aufweisen. Man hat also diese Korrektur vorzunehmen und die Rechnung nochmals durchzuführen.

Falls Maltose und Dextrin vorhanden sind, ist auch die starke Inversion auszuführen. Man bestimmt in der invertierten Lösung die Reduktion nach *Hadorn* und *von Fellenberg* 3a) und die Fructose 3d). In der direkten Inversion sind inbegriffen vorgebildete und aus Saccharose entstandene Glucose und Fruc-

tose, letztere unter Verlust von 22 %, ferner Maltose und Dextrin als Glucose. Wir subtrahieren von 3a), berechnet als Glucose, die unkorrigierte Fructose, durch Multiplikation mit $\frac{0,687}{0,775}$ in Glucose umgerechnet, die Glucose und die Maltose und rechnen den Rest durch Multiplikation mit 0,95 in Dextrin um.

Zusammenfassung

Es werden Methoden zur Bestimmung der einzelnen Zuckerarten nebeneinander beschrieben. Sie beruhen auf einer Kombination der titrimetrischen Zuckerbestimmung von *Hadorn* und *von Fellenberg* mit der Bestimmung der Monosaccharide, der Aldosen und der Ketosen, wobei einzelne dieser Bestimmungen auch nach schwacher und starker Inversion ausgeführt werden können.

Résumé

Des méthodes de dosage individuel des sucres dans leurs mélanges sont décrites. Elles reposent sur une combinaison de la méthode volumétrique de *Hadorn* et *von Fellenberg* avec le dosage des monosaccharides, des aldoses et des kétooses, certains de ces dosages pouvant être également exécutés après une faible ou une forte inversion.

Literatur

- 1) *H. Hadorn* und *Th. von Fellenberg*, diese Mitt. **36**, 359 (1945).
- 2) *Th. von Fellenberg*, diese Mitt. **11**, 129 (1920).
- 3) *C. Barfoed*, Z. an Ch. **12**, 27 (1873).
- 4) *W. Braun* und *B. Bleyer*, Z. an Ch. **76**, 1 (1929).
- 5) *Th. von Fellenberg*, diese Mitt. **26**, 182 (1935).
- 6) *Romijn*, Z. an Ch. **36**, 349 (1897).
- 7) *J. M. Kolthoff*, Z.U.G. **45**, 131 (1923).
- 8) *Lobry de Bruyn* und *Alberda van Eckenstein*, Ber. **28**, 3079 (1895).
- 9) *C. I. Kruisheer*, Z.U.L. **58**, 261 (1929).
- 10) *Th. von Fellenberg*, diese Mitt. **28**, 75 (1937).
- 11) *J. Tillmanns*, Z.U.L. **56**, 191 (1929).
- 12) *Th. von Fellenberg*, diese Mitt. **25**, 260 (1934).