

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

**Herausgeber:** Bundesamt für Gesundheit

**Band:** 47 (1956)

**Heft:** 1

**Artikel:** Über den Einfluss von Aminosäuren auf die Zuckerbestimmung : speziell nach der Methode von Potterat und Eschmann sowie nach Hadorn und von Fellenberg

**Autor:** Hadorn, H. / Biefer, K.W.

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-983947>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

**Download PDF:** 02.02.2025

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

# Über den Einfluss von Aminosäuren auf die Zuckerbestimmung

speziell nach der Methode von Potterat und Eschmann  
sowie nach Hadorn und von Fellenberg

Von *H. Hadorn* und *K. W. Biefer*

(Laboratorium VSK, Basel)

## I. Problemstellung

*Täufel* und *Iwainsky*<sup>1)</sup> haben über den störenden Einfluss der Aminosäuren bei der Zuckerbestimmung nach *Luff-Schoorl*<sup>2)</sup>, bzw. der Halbmikromethode nach *van de Kamer*<sup>3)</sup> berichtet.

Gewisse Aminosäuren (Tryptophan, Tyrosin, Histidin), welche nach den üblichen Klärungsmethoden im Filtrat verbleiben, können durch ihre Eigenreduktion gegenüber Luffscher Lösung einen erhöhten Kohlenhydratanteil vortäuschen. Aber auch andere Aminosäuren, welche sich gegenüber Luffscher Lösung indifferent verhalten, erhöhen die Reduktionswerte von Glucose in art- und mengenspezifischer Weise. Je nach Aminosäure erhöht sich der Reduktionswert von Glucose um 12 bis 41 %, wenn pro Äquivalent Glucose 6,8 Äquivalente Aminosäure vorhanden sind. So ergaben beispielsweise 5,98 mg Glucosehydrat + 15,36 mg Glykokoll in 10 ml Reaktionsmischung nach *Luff* einen um 28,5 % zu hohen Glucosewert.

Bei Zuckerbestimmungen mit Barfoed's Reagens nach *Bleyer* und *Sichert*<sup>4)</sup> hat *Iwainsky*<sup>5)</sup> festgestellt, dass ein Glykokollzusatz das Reduktionsvermögen der Glucose stark herabsetzt. Bei Zuckerbestimmungen nach *Fehling* verursacht Glykokoll nur ganz minime Fehler.

Der störende Einfluss der Aminosäuren bei Zuckerbestimmungen wurde von *Iwainsky* so gedeutet, dass sich neben dem Kupfer-citrat-Komplex der Lufflösung, bzw. dem Kupfer-Acetat-Komplex in der Barfoed-Lösung neue Komplexe zwischen Aminosäure und Kupfer bilden. Diese Komplexe haben alle verschiedene Komplexbildungskonstanten. Durch die teilweise Überführung des komplex gebundenen Kupfers der Luff- oder Barfoed-Lösung in Aminosäure-Komplexe wird eine Änderung des unter bestimmten Versuchsbedingungen empirisch festgelegten Reduktionswertes bewirkt.

In der vorliegenden Arbeit soll nun untersucht werden, wie sich die verschiedenen Aminosäuren auf die komplexometrische Zuckerbestimmung nach *Potterat* und *Eschmann*<sup>6)</sup> auswirken. Interessehalber wurden auch einige Versuche mit Fehlingscher Lösung nach der titrimetrischen Methode *Hadorn* und *von Fellenberg*<sup>7)</sup> ausgeführt.

Die neue Methode nach *Potterat* und *Eschmann*, welche sich durch grosse Genauigkeit und gute Reproduzierbarkeit der Werte auszeichnet, hat sich bei der

Untersuchung verschiedener Lebensmittel, wie Milkschokoladen, Milch, Honig und Süssweinen, bereits mehrfach bewährt.

Das Reagens besteht aus einer Kupfer-Komplexon-Lösung in schwach alkalischer Lösung, welche aus Natriumkarbonat, Kupfersulfat und Komplexon III in annähernd stöchiometrischen Mengen hergestellt wird (Komplexon III = Dinatriumsalz-dihydrat der Äthylendiamintetraessigsäure). In diesem Komplexon-Reagens ist das Kupfer ziemlich stark komplex gebunden. Es wäre demnach zu erwarten, dass sich die Aminosäuren weniger stark störend auf das Reduktionsvermögen der Zuckerlösungen auswirken als beim Barfoed- oder Luff-Reagens.

## II. Methode Potterat und Eschmann

### 1. Versuche mit Invertzucker und Aminosäuren

Die Versuche wurden analog angestellt, wie dies *Täufel* und *Iwainsky* angegeben haben. Zu einer aus reiner Saccharose durch schwache Inversion nach *Schoch*<sup>8)</sup> hergestellten neutralisierten Invertzuckerlösung wurden steigende Mengen der wässrigen Aminosäurelösungen, welche vorher schwach alkalisch gemacht worden waren (Phenolphthalein rötlich) zugesetzt.

Je 5 ml Zuckerlösung wurden in einen Filterkolben nach *Potterat-Eschmann* pipettiert und mit 1—5 ml Aminosäurelösung versetzt. Das Flüssigkeitsvolumen ergänzte man mit Wasser auf 10 ml und gab 10 ml Komplexon-Kupfer-Reagens zu. Anschliessend wurde vorschriftsgemäss während 10 Minuten gekocht, der Kupferoxydulniederschlag nach dem Abkühlen abfiltriert, in Salpetersäure gelöst und das Kupfer komplexometrisch titriert.

Die Resultate sind in Tabelle 1 angegeben. Zahlreiche der geprüften Aminosäuren, wie Glykokoll, Alanin, Phenylalanin, Valin, Tyrosin, Tryptophan, und Glutaminsäure verursachen nur eine ganz minime Erhöhung des Reduktionsvermögens. So gibt beispielsweise ein Zusatz von 4,2 Äquivalenten Glykokoll auf 1 Äquivalent Invertzucker einen um rund 1% zu hohen Wert, was bei den meisten Analysen nahezu innerhalb der Fehlergrenze liegt. Bei der Methode *Luff-Schoorl* dagegen erhöhen alle Aminosäuren, selbst bei geringen Zusätzen, die Resultate ganz beträchtlich, wie von *Iwainsky* gezeigt wurde. Die Komplexon-Methode nach *Potterat* und *Eschmann* weist also gegenüber derjenigen von *Luff* auch in dieser Hinsicht Vorteile auf.

Gewisse Aminosäuren, wie Histidin, Arginin, Cystin oder die Fleischbase Kreatinin stören allerdings die Analyse sehr stark. Das Kupferoxydul fällt gelb, sehr feinkörnig, teilweise kolloidal aus und lässt sich sehr schwer abfiltrieren. Beim Auswaschen entstehen Verluste, indem ein Teil des Niederschlages kolloidal durch das Filter läuft. Es war in diesen Fällen überhaupt nicht möglich, irgendwelche reproduzierbaren Werte zu erhalten. Auffallenderweise sind es ausschliesslich Diaminosäuren oder kompliziertere Aminosäuren mit mehreren N-Atomen, welche diese Störung verursachen, wobei die aliphatische Diaminosäure

Tabelle 1  
Versuche mit Invertzucker

| Aminosäure                         |       | Invertzucker<br>mg | Abweichung<br>vom Reduk-<br>tionswert<br>der reinen<br>Zuckerlösung<br>‰ | Molverhältnis<br>Hexose zu<br>Aminosäure | Bemerkungen   |
|------------------------------------|-------|--------------------|--|--|---|
| Bezeichnung                        | mg    |                    |  |  |   |
| 1. Glykokoll<br>Molgew. 75,07      | 0     | 17,86              | 0  | 1 : 0                                    | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 3,14  | 17,88              | +0,10  | 1 : 0,42                                 | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 6,28  | 17,86              | 0  | 1 : 0,84                                 | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 12,56 | 17,90              | +0,22  | 1 : 1,68                                 | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 18,84 | 17,98              | +0,68  | 1 : 2,52                                 | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 31,4  | 18,06              | +1,12  | 1 : 4,22                                 | Cu <sub>2</sub> O normal  |
| 2. Alanin<br>Molgew. 89,09         | 0     | 17,58              | 0  | 1 : 0                                    | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 5,0   | 17,60              | +0,1   | 1 : 0,58                                 | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 15,0  | 17,79              | +1,19  | 1 : 1,73                                 | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 25,0  | 17,86              | +1,59  | 1 : 2,88                                 | Cu <sub>2</sub> O normal  |
| 3. Phenylalanin<br>Molgew. 165,12  | 0     | 17,16              | 0  | 1 : 0                                    | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 5,4   | 17,20              | +0,23  | 1 : 0,34                                 | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 10,8  | 17,24              | +0,47  | 1 : 0,68                                 | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 16,2  | 17,20              | +0,23  | 1 : 1,02                                 | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 27,0  | 17,24              | +0,47  | 1 : 1,72                                 | Cu <sub>2</sub> O normal  |
| 4. Valin<br>Molgew. 117,15         | 0     | 18,52              | 0  | 1 : 0                                    | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 6,94  | 18,54              | +0,11  | 1 : 0,58                                 | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 13,88 | 18,60              | +0,43  | 1 : 1,15                                 | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 20,8  | 18,60              | +0,43  | 1 : 1,73                                 | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 34,7  | 18,72              | +1,08  | 1 : 2,88                                 | Cu <sub>2</sub> O normal  |
| 5. Tyrosin<br>Molgew. 181,18       | 0     | 17,61              | 0  | 1 : 0                                    | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 3,6   | 17,61              | 0  | 1 : 0,20                                 | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 7,2   | 17,66              | +0,27  | 1 : 0,40                                 | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 10,8  | 17,70              | +0,51  | 1 : 0,61                                 | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 18,0  | 17,70              | +0,51  | 1 : 1,02                                 | Cu <sub>2</sub> O normal  |
| 6. Tryptophan<br>Molgew. 204,22    | 0     | 17,61              | 0  | 1 : 0                                    | Beim Auflösen des<br>Cu <sub>2</sub> O-Niederschlags<br>in HNO <sub>3</sub> entsteht<br>eine grüne Lösung.<br>Umschlag bei Titra-<br>tion ist weniger<br>scharf |
|                                    | 4,9   | 17,66              | +0,27  | 1 : 0,25                                 |   |
|                                    | 9,8   | 17,66              | +0,27  | 1 : 0,50                                 |   |
|                                    | 14,7  | 17,70              | +0,51  | 1 : 0,75                                 |   |
|                                    | 24,5  | 17,78              | +0,96  | 1 : 1,26                                 |   |
| 7. Glutaminsäure<br>Molgew. 147,13 | 0     | 18,52              | 0  | 1 : 0                                    | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 7,0   | 18,60              | +0,43  | 1 : 0,46                                 | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 14,0  | 18,68              | +0,86  | 1 : 0,92                                 | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 21,0  | 18,64              | +0,64  | 1 : 1,38                                 | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 35,0  | 18,76              | +1,30  | 1 : 2,31                                 | Cu <sub>2</sub> O normal  |

Tabelle 1 (Fortsetzung)

| Aminosäure                        |      | Invertzucker<br>mg | Abweichung<br>vom Reduk-<br>tionswert<br>der reinen<br>Zuckerlösung<br>‰ | Molverhältnis<br>Hexose zu<br>Aminosäure | Bemerkungen   |
|-----------------------------------|------|--------------------|--|--|---|
| Bezeichnung                       | mg   |                    |  |  |   |
| 8. Lysin-2HCl<br>Molgew. 219,1    | 0    | 17,58              | 0  | 1 : 0                                    | Cu <sub>2</sub> O normal rot  |
|                                   | 5,0  | 17,64              | +0,34  | 1 : 0,23                                 | Cu <sub>2</sub> O normal rot  |
|                                   | 15,0 | 17,55              | -0,17  | 1 : 0,70                                 | Cu <sub>2</sub> O normal rot  |
|                                   | 25,0 | 17,49              | -0,51  | 1 : 1,17                                 | Cu <sub>2</sub> O normal rot  |
| 9. Histidin-HCl<br>Molgew. 191,62 | 0    | 17,58              | 0  | 1 : 0                                    | Cu <sub>2</sub> O normal rot  |
|                                   | 1,0  | 17,71              | +0,74  | 1 : 0,05                                 | Cu <sub>2</sub> O orange-rot;<br>filtriert normal   |
|                                   | 2,0  | 16,54              | -5,93  | 1 : 0,12                                 | Cu <sub>2</sub> O ockerfarbig,<br>läuft kolloidal<br>durchs Filter                        |
|                                   | 5,0  | 15,45              | -12,11   | 1 : 0,27                                 | Cu <sub>2</sub> O ockerfarbig,<br>läuft kolloidal<br>durchs Filter                        |
| 10. Arginin<br>Molgew. 174,21     | 0    | 16,63              | 0  | 1 : 0                                    | Cu <sub>2</sub> O normal rot  |
|                                   | 1,0  | 16,50              | -0,78  | 1 : 0,06                                 | Cu <sub>2</sub> O braungelb;<br>nicht kolloidal   |
|                                   | 2,0  | { 16,18            | -1,99  | 1 : 0,12                                 | { Cu <sub>2</sub> O ockerfarbig,<br>läuft beim Auswa-<br>schen kolloidal<br>durchs Filter |
|                                   | 5,0  | 16,42              |  |  |   |
|                                   | 10,0 | 15,58              | -  | 1 : 0,62                                 | Cu <sub>2</sub> O ockerfarbig,<br>nicht filtrierbar                                       |
| 11. Cystin<br>Molgew. 240,29      | 0    | 17,58              | 0  | 1 : 0                                    | Cu <sub>2</sub> O normal rot  |
|                                   | 1,0  | 17,40              | -1,03  | 1 : 0,04                                 | Cu <sub>2</sub> O normal, etwas<br>dunkler  |
|                                   | 2,0  | 17,22              | -2,05  | 1 : 0,08                                 | Cu <sub>2</sub> O braungelb,<br>nicht kolloidal   |
|                                   | 6,0  | 15,12              | -14,0  | 1 : 0,24                                 | Cu <sub>2</sub> O ockerfarbig,<br>kolloidal, läuft teil-<br>weise durch das<br>Filter     |
|                                   | 10,0 | 14,17              | -19,4  | 1 : 0,40                                 |   |
| 12. Kreatinin<br>Molgew. 113,10   | 0    | 17,58              | 0  | 1 : 0                                    | Cu <sub>2</sub> O normal rot  |
|                                   | 1,0  | 17,65              | +0,40  | 1 : 0,09                                 | Cu <sub>2</sub> O orangegelb,<br>filtriert normal   |
|                                   | 2,0  | 16,79              | -4,50  | 1 : 0,18                                 | Cu <sub>2</sub> O orangegelb,<br>läuft kolloidal<br>durchs Filter                         |
|                                   | 5,0  | 16,38              | -6,83  | 1 : 0,45                                 | Cu <sub>2</sub> O ockerfarbig,<br>läuft kolloidal<br>durchs Filter                        |

Lysin eine Ausnahme macht. Vermutlich bilden die stark störenden Aminosäuren besondere Komplexe mit Kupfersalzen, was möglicherweise auf Grund ihrer Konfiguration erklärt werden könnte.

## 2. Versuche mit Lactose

In analoger Weise wie mit Invertzucker wurden die Versuche mit Lactose und Zusatz verschiedener Aminosäuren durchgeführt. Die Resultate, welche in Tabelle 2 aufgeführt sind, ergaben, wie zu erwarten war, ein ganz ähnliches Bild

Tabelle 2  
Versuche mit Lactose

| Aminosäure                         |      | Lactose<br>wasser-<br>frei<br>mg | Abweichung<br>vom Reduk-<br>tionswert<br>der reinen<br>Zuckerlösung<br>‰ | Molverhältnis<br>Lactose zu<br>Aminosäure | Bemerkungen   |
|------------------------------------|------|----------------------------------|--|---|---|
| Bezeichnung                        | mg   |                                  |  |   |   |
| 1. Glykokoll<br>Molgew. 75,07      | 0    | 25,02                            | 0  | 1 : 0                                     | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 52,4 | 25,02                            | 0  | 1 : 9,55                                  | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 31,4 | 25,02                            | 0  | 1 : 5,73                                  | Cu <sub>2</sub> O normal  |
| 2. Phenylalanin<br>Molgew. 165,12  | 23,5 | 25,08                            | +0,24  | 1 : 1,99                                  | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 14,1 | 25,05                            | +0,12  | 1 : 1,19                                  | Cu <sub>2</sub> O normal  |
| 3. Valin<br>Molgew. 117,15         | 21,1 | 25,19                            | +0,68  | 1 : 2,47                                  | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 12,7 | 25,13                            | +0,44  | 1 : 1,48                                  | Cu <sub>2</sub> O normal  |
| 4. Tyrosin<br>Molgew. 181,18       | 18,5 | 25,02                            | 0  | 1 : 1,40                                  | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 10,8 | 24,97                            | -0,20  | 1 : 0,84                                  | Cu <sub>2</sub> O normal  |
| 5. Glutaminsäure<br>Molgew. 147,13 | 35,0 | 24,92                            | -0,40  | 1 : 3,26                                  | Cu <sub>2</sub> O normal  |
|                                    | 21,0 | 25,00                            | -0,08  | 1 : 1,96                                  | Cu <sub>2</sub> O normal  |
| 6. Histidin-2HCl<br>Molgew. 228,09 | 15,0 | 22,03                            | -11,9  | 1 : 1,32                                  | schlecht filtrierbar,<br>läuft teilweise kol-<br>loidal durchs Filter |
| 7. Arginin<br>Molgew. 174,21       | 14,8 | —                                | —  | 1 : 1,32                                  | läuft kolloidal<br>durchs Filter,<br>Niederschlag ocker-<br>farbig    |
| 8. Kreatinin<br>Molgew. 113,10     | 10,0 | —                                | —  | 1 : 1,38                                  | läuft kolloidal<br>durchs Filter,<br>Niederschlag ocker-<br>farbig    |

wie die Versuche mit Invertzucker. Die Aminosäuren Glykokoll, Phenylalanin, Valin, Tyrosin und Glutaminsäure verursachen nur unbedeutende Fehler. Histidin, Arginin sowie die Fleischbase Kreatinin stören sehr stark. Die Kupferoxydniederschläge sind mehr oder weniger kolloidal und nicht filtrierbar, so dass die Bestimmung in den meisten Fällen gar nicht zu Ende geführt werden kann.

### 3. Einfluss der Klärung nach Carrez

Es sollte noch geprüft werden, ob sich die stark störenden Aminosäuren durch eine Klärung nach Carrez aus der Lösung entfernen lassen.

In einem 50 ml-Messkölbchen wurden je 20 ml Invertzuckerlösung (= 83,15 mg) mit wechselnden Mengen Argininlösung (2,5—20 ml 1%ige Lösung) gemischt. Zur Klärung gab man je 1 ml Carrez-Lösung I und II und hierauf tropfenweise n-Natronlauge zu, bis Phenolphthalein eben schwach rötlich wurde. Nach dem Auffüllen mit Wasser und dem Filtrieren erschien die Lösung farblos. Im Filtrat wurden pH-Werte zwischen 6,9 und 7,9 gemessen. Je 10 ml dieses Filtrates benützten wir für die Zuckerbestimmung nach Potterat und Eschmann. Zum Vergleich wurde in analogen Mischungen, jedoch ohne Klärung, die Zuckerbestimmung ebenfalls durchgeführt.

Tabelle 3

Zuckerbestimmung in Gegenwart von Arginin vor und nach der Klärung mit Carrez-Lösung

| In je 10 ml Lösung |                                 | Ohne Klärung             |                    |   | Nach Carrez-Klärung      |                    |   |
|--------------------|---------------------------------|--------------------------|--------------------|---|--------------------------|--------------------|---|
| Invertzucker mg    | Argininmono-<br>hydrochlorid mg | gefunden Invertzucker mg | relativer Fehler % | Bemerkungen   | gefunden Invertzucker mg | relativer Fehler % | Bemerkungen   |
| 16,63              | 0                               | 16,63                    | 0                  | Cu <sub>2</sub> O rot, normal                                       | —                        | —                  | —   |
| 16,63              | 5                               | 15,58                    | —6,3               | Cu <sub>2</sub> O ockerfarbig,                                      | 16,71                    | +0,5               | Cu <sub>2</sub> O rot, normal   |
| 16,63              | 7                               | 15,62                    | —6,1               | läuft beim Auswaschen   | 16,77                    | +0,8               | Cu <sub>2</sub> O rot, normal   |
| 16,63              | 10                              | 15,21                    | —8,5               | kolloidal durch das Filter  | 16,77                    | +0,8               | Cu <sub>2</sub> O rot, normal   |
| 16,63              | 20                              | —                        | —100               | Cu <sub>2</sub> O gelb, teilweise kolloidal, läuft durch das Filter | 14,64                    | —12                | Cu <sub>2</sub> O gelbbraun, läuft beim Auswaschen kolloidal durch das Filter             |
| 16,63              | 40                              | —                        | —100               | Cu <sub>2</sub> O kolloidal, nicht filtrierbar                      | —                        | —100               | Cu <sub>2</sub> O gelb, läuft teilweise durch das Filter, verstopft schließlich die Poren |

Schon sehr geringe Mengen Arginin stören die Zuckerbestimmung erheblich. So verursachen bereits 5 mg Arginin neben 16,63 mg Invertzucker einen relativen Fehler von  $-6,3\%$ . Durch eine vorhergehende Carrez-Klärung der Lösung lässt sich der Fehler beheben. Das Arginin wird offenbar zum grössten Teil entfernt. Bei Anwesenheit grösserer Mengen Arginin, beispielsweise 20 mg auf 16,6 mg Invertzucker, ist die Zuckerbestimmung nicht mehr durchführbar, weil sich kolloidales Kupferoxydul bildet. Die Klärung nach Carrez verbessert das Resultat etwas, der Fehler ist aber bereits viel zu gross ( $-12\%$ ). Wird die Argininmenge weiter erhöht auf 40 mg, so ist auch in der geklärten Lösung keine Verbesserung mehr festzustellen. Das Arginin wird demnach bei grösseren Konzentrationen durch den Zink-ferrocyanid-Niederschlag nur unvollständig entfernt, was leicht verständlich ist, da es sich bei der Carrez-Klärung um einen Adsorptionsvorgang handelt.

#### 4. Versuche mit Caseinhydrolysat

Um zu untersuchen, wie ein kompliziertes Aminosäuregemisch die Zuckerbestimmung beeinflusst, haben wir ein Caseinhydrolysat hergestellt.

20 g Casein wurden mit 100 ml 20 %iger Salzsäure während 12 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Die Salzsäure wurde anschliessend im Vakuum abdestilliert und das Hydrolysat mit verdünnter Natronlauge neutralisiert ( $\text{pH} = 3,5$ ). Die dunkle Lösung wurde zunächst mit 2 g Aktivkohle geklärt und dann durch eine Säule filtriert, welche unten mit 2 g Silikagel und darüber mit 2 g Aktivkohle beschickt war. Die filtrierte Lösung verdünnten wir auf 500 ml. Die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl ergab in 10 ml dieser Lösung (entsprechend 0,4 g Casein) 47,2 mg N.

Für die Zuckerbestimmung benutzten wir je 5 ml einer Invertzucker- bzw. einer Lactoselösung, setzten steigende Mengen des Caseinhydrolysates zu und ergänzten mit Wasser auf 10 ml. Anschliessend gaben wir 10 ml Kupfer-Komplexon-Reagens zu und kochten vorschriftsgemäss während 10 Minuten.

##### a) Ohne Carrez-Klärung

Das nur durch Aktivkohle und Silikagel filtrierte «ungeklärte» Caseinhydrolysat stört die Zuckerbestimmung ausserordentlich stark. Bereits 1 ml dieser Lösung entsprechend 4,7 mg N verursacht einen Fehler von  $-25\%$  (Tabelle 4, Versuch 2). Das  $\text{Cu}_2\text{O}$  fällt hellgelb, z.T. kolloidal aus und läuft leicht durch das Filter. Bei Anwesenheit grösserer Mengen dieses «ungeklärten» Caseinhydrolysates fällt gar kein  $\text{Cu}_2\text{O}$  mehr aus, das Reaktionsgemisch verfärbt sich lediglich grün (Versuche 3 und 4). Zuckerbestimmungen sind somit bei Gegenwart eines derartigen Eiweisshydrolysates praktisch unmöglich.

##### b) Nach Carrez-Klärung

In der Praxis werden die Lösungen vor der eigentlichen Zuckerbestimmung in der Regel nach Carrez geklärt. Wir führten daher in obigem Caseinhydrolysat ebenfalls eine solche Klärung durch.



40 ml Caseinhydrolysat wurden in einem 50 ml-Messkolben mit je 2 ml Carrez-Lösung I und II versetzt, dann wurde n-NaOH zugegeben, bis Phenolphthalein schwach rötlich, und filtriert. 1 ml dieses «geklärten» Caseinhydrolysates entspricht 0,8 ml der ungeklärten Lösung. Das «geklärte» Filtrat stört die Zuckerbestimmung viel weniger stark, was aus den Resultaten der Tabelle 4 ersichtlich ist. Der Kupferoxydulniederschlag fällt zwar orangerot oder citronengelb aus und hat die Neigung, beim Auswaschen kolloidal durch das Filter zu laufen. Bei kleinen Zusätzen (1 ml) dieses geklärten Hydrolysates werden richtige Werte gefunden (Versuche 5, 10, 11). Bei grösseren Zusätzen (5 ml) können merkliche Verluste eintreten, wie dies bei Versuch 7 mit Invertzucker der Fall war.

*Tabelle 4*  
*Einfluss von Caseinhydrolysat auf die Zuckerbestimmung*  
*nach Potterat und Eschmann*

| Versuche mit je 5 ml Invertzuckerlösung, enthaltend 18,96 mg                 |                       |                  |                              |                 |   |
|--|-----------------------|------------------|------------------------------|-----------------|---|
| Nr.  | Invertzuckerlösung ml | Caseinhydrolysat | Gef. Invertzucker mg         | Abweichung in % | Aussehen des Cu <sub>2</sub> O-Niederschlages und Beobachtungen               |
| 1  | 5                     | 0                | 18,96                        | 0               | Cu <sub>2</sub> O ziegelrot   |
| 2  | 5                     | 1 ml ungeklärt   | 14,19                        | —25             | gelber Niederschlag, welcher teilweise durch das Filter läuft                 |
| 3  | 5                     | 3 ml ungeklärt   | —                            | —100            | } Es entsteht kein Niederschlag, lediglich dunkelgrüne Verfärbung der Lösung  |
| 4  | 5                     | 5 ml ungeklärt   | —                            | —100            |   |
| 5  | 5                     | 1 ml geklärt     | 18,81                        | —0,8            | gelboranger Niederschlag  |
| 6  | 5                     | 3 ml geklärt     | 18,43                        | —2,8            | } gelber Niederschlag, mit Tendenz beim Auswaschen durch das Filter zu laufen |
| 7  | 5                     | 5 ml geklärt     | 17,97                        | —5,2            |   |
| Versuche mit je 5 ml Lactoselösung, enthaltend 25,02 mg Lactose (wasserfrei) |                       |                  |                              |                 |   |
| Nr.  | Lactoselösung ml      | Caseinhydrolysat | Gef. Lactose (wasserfrei) mg | Abweichung in % | Aussehen des Cu <sub>2</sub> O-Niederschlages und Beobachtungen               |
| 8  | 5                     | 0                | 25,02                        | 0               | Cu <sub>2</sub> O zieglrot  |
| 9  | 5                     | 5 ml ungeklärt   | —                            | —100            | kein filtrierbarer Niederschlag   |
| 10   | 5                     | 1 ml geklärt     | 24,97                        | —0,2            | Cu <sub>2</sub> O orangerot   |
| 11   | 5                     | 2 ml geklärt     | 24,81                        | —0,8            | Cu <sub>2</sub> O citronengelb  |
| 12   | 5                     | 5 ml geklärt     | 25,47                        | +1,8            | Cu <sub>2</sub> O citronengelb  |

Beim analogen Versuch 12 mit Lactose wurde dagegen ein etwas zu hohes Resultat gefunden.

Durch die Carrez-Klärung werden die störenden Aminosäuren nur unvollständig und vermutlich nicht in genau reproduzierbarer Weise entfernt, so dass bei Gegenwart grösserer Mengen Eiweisshydrolysat die Zuckerbestimmung trotz der Klärung nicht zuverlässig gelingt.

### III. Einfluss der Aminosäuren auf die Zuckerbestimmung nach Hadorn und von Fellenberg

Die titrimetrische Zuckerbestimmung nach *Hadorn* und *von Fellenberg*<sup>7)</sup>, welche mit Fehling-Lösung arbeitet, ist in unserem Laboratorium seit Jahren für die Zuckerbestimmung in den verschiedenartigsten Lebensmitteln benützt worden, ohne dass je auffallende Störungen beobachtet worden wären. Es wurde nun interessehalber der Einfluss einiger stark störender Aminosäuren untersucht.

Die Zuckerbestimmungen wurden in Reagensgläsern mit je 10 ml einer Lactoselösung (enthaltend 10,0 mg Lactosehydrat) und steigenden Mengen der Aminosäuren durchgeführt. In 1 ml Aminosäurelösung waren jeweils 4 mg der betreffenden Aminosäure enthalten. Das Volumen der Mischung wurde mit Wasser auf 20 ml ergänzt, 5 ml Fehling-Mischung zugesetzt und in siedendem

*Tabelle 5*  
*Einfluss einiger Aminosäuren auf die Zuckerbestimmung nach der Methode Hadorn und von Fellenberg*

| Aminosäure                 | mg | Lactosehydrat gefunden mg | Fehler in % | Bemerkungen   |
|----------------------------|----|---------------------------|-------------|---|
| Tryptophan                 | 0  | 10,0                      | 0           | Niederschlag rot  |
|                            | 4  | 10,55                     | +5,5        | Niederschlag orange   |
|                            | 20 | 11,45                     | +14,5       | Niederschlag gelb   |
|                            | 40 | 13,20                     | +32         | Niederschlag gelb   |
| Arginin-mono-hydrochlorid  | 0  | 10,00                     | 0           | Niederschlag rot  |
|                            | 4  | 10,00                     | 0           | Niederschlag gelb-rotbraun  |
|                            | 20 | 10,20                     | +2          | Niederschlag gelblich   |
|                            | 40 | 8,80                      | -12         | Niederschlag gelblich, die überstehende Lösung ist nach dem Zentrifugieren schwach trüb |
| Histidin-mono-hydrochlorid | 0  | 10,00                     | 0           | Niederschlag rot  |
|                            | 4  | 9,00                      | -10         | Aussehen normal   |
|                            | 20 | 3,47                      | -75         | Niederschlag gelb, überstehende Lösung trüb   |
|                            | 40 | 0                         | -100        | kein Niederschlag, Lösung klar  |

Wasserbad erhitzt. Das ausgeschiedene Kupferoxydul wurde abzentrifugiert und vorschriftsgemäss titriert.

Die Resultate, aus welchen deutlich ersichtlich ist, dass die geprüften Aminosäuren auch bei dieser Methode stark störend wirken, sind in der Tabelle 5 zusammengestellt. Der Fehler ist je nach Aminosäure und je nach Menge positiv oder negativ und die Resultate sind nicht ohne weiteres verständlich. Ein Zusatz von Tryptophan verursacht in allen Fällen zu hohe Resultate. Der Fehler wird grösser mit steigender Tryptophanmenge.

Bei Arginin stören kleine Mengen nicht, bei einem grösseren Zusatz von 20 mg auf 10 mg Zucker fällt das gebildete Kupferoxydul statt schön ziegelrot gelblich aus. Die Lactosewerte sind etwas zu hoch. Bei noch grösserem Arginin-zusatz bleibt ein Teil des Kupferoxyduls kolloidal in der überstehenden Lösung und lässt sich nicht abzentrifugieren, so dass Verluste und folglich zu niedrige Werte resultieren.

Bei Zusatz von Histidin werden stets zu niedrige Werte gefunden. Sind 40 mg Histidin neben 10 mg Lactose vorhanden, so wird überhaupt kein abzentrifugierbarer Niederschlag von Kupferoxydul gebildet.

#### IV. Erklärung der Aminosäure-Wirkung

Der störende Einfluss von Aminosäuren, bzw. Eiweisshydrolysaten bei der Zuckerbestimmung beruht auf zwei verschiedenen Wirkungen. Erstens haben Aminosäuren die Eigenschaft, das Reduktionsvermögen der verschiedenen Zuckerarten mehr oder weniger stark zu erhöhen. Dies beruht nach *Täufel* und *Iwainsky* auf der Bildung von Kupfer-Aminosäure-Komplexen. Die zweite Wirkung ist mehr kolloidchemisch, sie erstreckt sich auf die Teilchengrösse des ausfallenden Kupferoxyduls. Reine Zuckerlösungen reduzieren die Kupfer-Komplexon-Lösung zu einem dunkelroten, ziemlich grobkörnigen Kupferoxydul, welches sich leicht abfiltrieren und auswaschen lässt. Bei Gegenwart gewisser kompliziert gebauter Aminosäuren fällt das Kupferoxydul, wie bereits erwähnt, sehr feinkörnig, orangegelb bis zitronengelb oder ockerfarbig aus. Der Niederschlag ist nahezu kolloidal und läuft teilweise, in extremen Fällen vollständig, durch das Filter, so dass beträchtliche Verluste entstehen.

Es ist daher leicht verständlich, dass *Täufel* und *Iwainsky*, welche die Methode *Luff-Schoorl* benützt haben, bei Aminosäurezusatz stets zu hohe, aber nie zu niedrige Resultate gefunden haben. Bei der Methode *Luff-Schoorl* wird bekanntlich nicht das ausgefallene Kupferoxydul bestimmt, sondern man ermittelt den in der Lösung enthaltenen Überschuss an nicht reduzierten Kupfer (2) Ionen.

Jede Analysenmethode, bei welcher das Kupferoxydul abfiltriert oder abzentrifugiert wird, muss unrichtige Werte liefern, wenn dasselbe kolloidal entsteht und sich nicht quantitativ abtrennen lässt. Dies ist sowohl bei der Methode *Potterat* und *Eschmann* als auch bei der *Hadorn-* und *von Fellenberg-*Methode der Fall.

## Zusammenfassung

1. Der Einfluss einiger Aminosäuren und eines Caseinhydrolysates auf die komplexometrische Zuckerbestimmung nach *Potterat* und *Eschmann* sowie auf die *Hadorn-* und *von Fellenberg*-Methode wurde untersucht.
2. Zahlreiche Aminosäuren stören die Zuckerbestimmung erheblich. Die Resultate erscheinen zunächst wenig übersichtlich, weil in manchen Fällen zu hohe, in anderen Fällen zu niedrige Werte gefunden wurden.
3. Es konnte gezeigt werden, dass sich zwei verschiedene Fehler überlagern. Das Reduktionsvermögen der verschiedenen Zuckerarten wird durch die Anwesenheit von Aminosäuren immer mehr oder weniger stark erhöht. Dieser positive Fehler ist abhängig von Art und Menge der Aminosäure.  
Bei Anwesenheit gewisser Aminosäuren (z.B. Histidin oder Arginin) fällt das entstandene Kupferoxydul nicht schön kristallin aus, sondern es wird ein mehr oder weniger kolloidaler Niederschlag gebildet, welcher bei der Methode *Potterat* und *Eschmann* durch das Filter läuft. Bei der Methode *Hadorn* und *von Fellenberg* lässt sich dieser Niederschlag nicht sauber abzentrifugieren. Nach beiden Methoden entstehen auf diese Weise Verluste (negative Fehler).
4. Eiweisshydrolysate wirken ebenfalls stark störend auf die Zuckerbestimmung. Durch die übliche Klärung mit *Carrez*-Lösung und Natronlauge können die störenden Stoffe zum Teil entfernt werden.  
Falls die Aminosäurekonzentration in der Ausgangslösung nicht zu hoch war, können nach der Klärung brauchbare Werte erzielt werden. Grössere Fehler entstehen erst, wenn das ausgeschiedene Kupferoxydul beim Auswaschen kolloidal durch das Filter läuft.

## Résumé

1. On a examiné l'influence de quelques acides aminés et d'un hydrolysate de caséine sur le dosage des sucres par complexométrie selon *Potterat-Eschmann*, ainsi que par la méthode de *Hadorn-von Fellenberg*.
2. On a constaté que de nombreux acides aminés gênent considérablement le dosage des sucres, les valeurs obtenues étant tantôt trop élevées, tantôt trop faibles.
3. On a pu montrer que l'action gênante des acides aminés est due aux deux causes suivantes:
  - a) une augmentation du pouvoir réducteur des sucres, variable suivant la nature et la quantité des acides aminés;
  - b) la précipitation de l'oxydure de cuivre sous forme plus ou moins colloïdale qui passe ainsi au travers du filtre (*Potterat-Eschmann*) ou se laisse mal centrifuger (*Hadorn-von Fellenberg*).
4. On a observé que la défécation usuelle, selon *Carrez*, ne permet pas d'éliminer complètement les substances gênantes. Si la teneur initiale en acides aminés n'est pas trop élevée, on obtient cependant des résultats valables.

## Summary

It has been found that various amino acids interfere with the determination of the sugars according to *Potterat-Eschmann* (complexometry) or *Hadorn-von Fellenberg*. The interference is caused by an increase of the reduction power of sugars and by the formation of a  $\text{Cu}_2\text{O}$  more or less colloidal. The clarification, according to *Carrez*, does not completely remove the amino acids.

## Literatur

- 1) K. Täufel und H. Iwainsky, Ztschr. analyt. Chemie **136**, 31 (1952).
- 2) N. Schoorl, Chem. Weekblad **26**, 130 (1929); Z.U.L. **57**, 566 (1929).
- 3) Halbmikroausführung J. H. van de Kamer, Chem. Weekblad **39**, 585 (1942).
- 4) K. Sichert und B. Bleyer, Ztschr. analyt. Chem. **107**, 328 (1936).
- 5) H. Iwainsky, Z.U.L. **100**, 173 (1955).
- 6) M. Potterat und H. Eschmann, diese Mitt. **45**, 312 (1954).  
M. Potterat, Revue internationale de la Chocolaterie **10**, 1 (1955); Zucker und Süswarenwirtschaft **8**, 46 (1955).
- 7) H. Hadorn und Th. von Fellenberg, diese Mitt. **36**, 359 (1945).
- 8) W. Schoch, diese Mitt. **42**, 242 (1951).

## **Recherche des colorants artificiels dans les denrées alimentaires et identification des colorants par chromatographie sur papier.**

### **1) vins, vermouths, apéritifs, liqueurs, sirops et limonades**

Par *J. Deshusses* et *P. Desbaumes*  
(Laboratoire cantonal de chimie, Genève)

L'addition de colorants artificiels aux vins est une falsification qui est devenue fort rare de nos jours. Il est indispensable cependant de vérifier si les vins n'ont pas subi une telle addition. Pour la recherche des colorants artificiels dans les vins, la méthode suivante est signalée dans le Manuel suisse des denrées alimentaires <sup>1)</sup>.

Ajouter 2 ml de bisulfate de potassium à 10 % à 20 ml de vin et un fil de laine de 10 cm de long (ou plus petit si la coloration est faible). Chauffer le vin pendant 10 minutes dans un bain-marie bouillant. Si la laine non mordancée ne se colore pas, le vin ne contient pas de colorants artificiels. En cas contraire, faire bouillir le fil de laine avec de l'eau. Si la coloration de la laine persiste nettement, le vin doit être considéré comme coloré artificiellement; toutefois, une coloration rose sale de la laine ne doit pas être pris en considération. S'il s'agit d'identifier le colorant, on sépare le colorant de la laine au moyen d'ammoniaque à 1 %, puis on fixe à nouveau le colorant sur du coton ordinaire, coton mordancé, laine mordancée, etc.

La Pharmacopée helvétique <sup>2)</sup>, 5ème édition, indique une méthode qui n'est guère préférable à la précédente:

Etendre 10 ml de vin à 50 ml avec de l'eau; ajouter 1 ml de bisulfate de potassium à 10 % et faire bouillir 5 minutes avec quelques fils de laine blanche. La laine ne doit pas se colorer — ou se colorer à peine —. Dans aucun cas, elle ne doit rester colorée après avoir été bouillie dans de l'eau.