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

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 55 (1964)

Heft: 4

Artikel: Über die Theobrominbestimmung und die Berechnung der fettfreien Kakaomasse in Schokoladen : Überprüfung der Methode Pritzker und Jungkunz; Theobromingehalte von Kakaobohnen und Kakaomasse

Autor: Hadorn, H.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-982395

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. 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. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

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. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

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. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 17.07.2025

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

MITTEILUNGEN
AUS DEM GEBIETE DER
LEBENSMITTELUNTERSUCHUNG UND HYGIENE
VERÖFFENTLICHT VOM EIDG. GESUNDHEITSAMT IN BERN
Offizielles Organ der Schweizerischen 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. 19.— per Jahrgang (Ausland Fr. 24.—) Preis einzelner Hefte Fr. 3.50 (Ausland Fr. 4.50)
Suisse fr. 19.— par année (étranger fr. 24.—) Prix des fascicules fr. 3.50 (étranger fr. 4.50)

BAND – VOL. 55 1964 HEFT – FASC. 4

Über die Theobrominbestimmung und die Berechnung der fettfreien Kakaomasse in Schokoladen

Überprüfung der Methode Pritzker und Jungkunz; Theobromingehalte von Kakaobohnen und Kakaomasse

Von *H. Hadorn*
Laboratorium des Verbandes Schweiz. Konsumvereine (VSK), Basel

Zur Bestimmung der fettfreien Kakaomasse in Schokoladen gibt es verschiedene Möglichkeiten. Die einfachste Methode ist die indirekte Berechnung aus der Differenz. Bei Schokoladen, die nur Kakao, Zucker, Kakaofett und etwas Feuchtigkeit enthalten, ist die indirekte Methode recht genau und zuverlässig. Für Milchschokoladen wird die Sache bereits etwas komplizierter, weil außer Gesamtfett, Saccharose und Wasser auch die fettfreie Milchtrockensubstanz ermittelt werden muß. Dies geschieht durch Bestimmung der Lactose, der Milchproteine und der Berechnung des Anteils an Milchasche. Bei Schokoladen, die außerdem noch andere Zusätze, wie beispielsweise gemahlene Haselnüsse oder Mandeln enthalten, versagt die indirekte Methode.

Es wurde daher nach direkten Methoden zur Bestimmung der fettfreien Kakaomasse gesucht. Nach der Arbeitsvorschrift des amerikanischen Methodenbuches AOAC (1) wird die Schokolade zuerst entfettet und anschließend mit Na-

triumoxalat-Lösung behandelt. Aus den in Natriumoxalat unlöslichen Bestandteilen berechnet man die Kakaomasse mittels eines empirischen Faktors. Die Methode ist etwas problematisch weil die Kakaomasse in Natriumoxalat nicht vollkommen unlöslich ist. Je nach Vermahlung und Feinheit der Kakaomasse ist der wasserlösliche Anteil (Kohlenhydrate, Gerbstoffe usw.) verschieden groß. Bei Schokoladen mit anderen unlöslichen Bestandteilen, wie Haselnüssen oder Mandeln, versagt übrigens auch die AOAC-Methode, weil die unlöslichen Bestandteile der Haselnüsse oder Mandeln eine entsprechende Menge fettfreie Kakaomasse vortäuschen.

Als charakteristische Bestandteile der Kakaomasse können die Alkaloide Theobromin und Coffein angesehen werden. Methoden zur Bestimmung des Theobromins wurden schon vor vielen Jahren vorgeschlagen.

Die älteren Methoden zur Theobrominbestimmung von *Brunner* (2), *Hilger* und *Eminger* (3), *Beckurts* und *Fromme* (4), *Wadsworth* (5), sowie von *Fincke* (6) sind zum Teil recht umständlich und zeitraubend. Sie liefern oft wenig zuverlässige Resultate.

Pritzker und *Jungkunz* (7) haben als erste eine relativ einfache, gut brauchbare Methode zur Theobrominbestimmung ausgearbeitet. Diese Methode wurde später von *Hadorn* und *Jungkunz* (8) übernommen und mit Erfolg zur Bestimmung der fettfreien Kakaomasse in diätetischen Lebensmitteln (9) herangezogen. Die Arbeitsvorschrift ist auch in das neue Schweiz. Lebensmittelbuch (10) aufgenommen worden. Im VSK-Labor wird die Theobrominbestimmung nach *Pritzker* und *Jungkunz* seit Jahren benutzt, um in Milchschokoladen und Schokoladen mit Mandel- oder Haselnußmasse den Gehalt an fettfreier Kakaomasse zu bestimmen. Sie liefert in der Regel gut reproduzierbare und vertrauenswürdige Resultate. Ab und zu traten jedoch gewisse Störungen auf, weshalb eine erneute Überprüfung notwendig erschien.

Für die Berechnung der fettfreien Kakaomasse in Schokoladen unbekannter Zusammensetzung benötigt man einen vertrauenswürdigen Mittelwert für den Theobromingehalt der Kakaomasse. Es wurden deshalb eine größere Anzahl von Theobrominbestimmungen an Kakaobohnen verschiedener Provenienz, sowie an Kakaomassen aus Betrieben durchgeführt. An Schokoladen bekannter Zusammensetzung wurde die Methode ausprobiert. Die Resultate sollen diskutiert und statistisch ausgewertet werden.

I. Überprüfung der Methode Pritzker und Jungkunz

Bei der Methode *Pritzker* und *Jungkunz* (7) wird eine abgewogene Probe Kakaomasse oder Schokolade nach Zusatz von Magnesiumoxid mit 200 ml Wasser gekocht. Dabei werden die chemisch gebundenen Alkaloide abgespalten und gelangen quantitativ in die alkalische, wässerige Lösung. Nach dem Abkühlen wird filtriert. In einem aliquoten Teil des Filtrates können die Alkaloide durch 8stündiges Perforieren mit Chloroform isoliert und schließlich gewogen werden.

Bei dieser Methode werden ab und zu Störungen beobachtet. So erhält man beispielsweise gelegentlich nach dem Kochen des Kakaos oder der Schokolade mit Wasser und Magnesiumoxid schwer filtrierbare Lösungen. Bei der Perforation mit Chloroform werden manchmal lästige Emulsionen gebildet. Auch zeigte sich, daß die angegebene Perforationszeit von 8 Stunden nicht immer ausreicht, um das Theobromin quantitativ aus der wäßrigen Lösung zu extrahieren. Das isolierte Alkaloidgemisch, bestehend aus Theobromin und Coffein ist meistens noch mit anderen Stoffen (Kohlenhydrate, Fett) verunreinigt, so daß eine *Kjeldahl*-Bestimmung erforderlich ist.

Diese Methode wurde in verschiedenen Punkten noch einmal überprüft.

Kochzeit

Nach *Pritzker* und *Jungkunz* sollen 5 Minuten Kochzeit mit Wasser und Magnesiumoxid genügen, um das im Kakao gebundene Theobromin abzuspalten und quantitativ in Lösung zu bringen. Eigene Versuche bestätigten dies. Die gelegentlich beim Perforieren auftretenden lästigen Emulsionen lassen sich vermeiden, wenn die Kochzeit von 5 auf 10 Minuten erhöht wird. Um zu kontrollieren, ob dabei die Ausbeute nicht verändert wird, haben wir im gleichen Kakao die Theobrominbestimmung mit verschieden langen Kochzeiten durchgeführt.

Aus den Versuchen in Tabelle 1 geht hervor, daß die Kochzeit ohne Einfluß auf die Ausbeute ist. Nach 5 Minuten langem Kochen mit Magnesiumoxid ist das im Kakao chemisch gebundene Theobromin bereits abgespalten. Bei längerem Erhitzen bleibt die Ausbeute konstant. Verluste, etwa durch Zersetzung, treten nicht auf. Um Emulsionsbildung während des Perforierens sicher zu vermeiden, wurde die Kochzeit auf 10 Minuten festgelegt.

Tabelle 1 Einfluß der Kochzeit

Je 5,00 g Kakaopulver mit 79,5 % fett- und wasserfreier Kakaomasse wurden mit 200 ml Wasser und 3,0 g Magnesiumoxid gekocht. Nach dem Abkühlen wurde das verdampfte Wasser ergänzt, anschließend zentrifugiert und die überstehende Lösung filtriert.

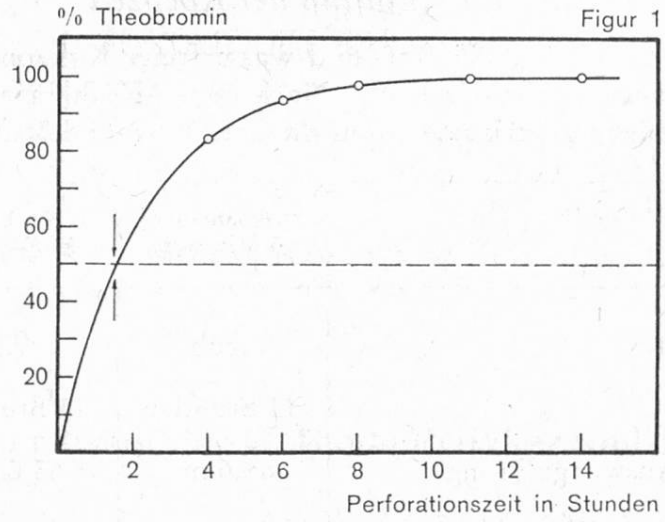
	Kochzeit 5 Minuten	Kochzeit 10 Minuten	Kochzeit 15 Minuten
Aussehen des Filtrates	trüb	trüb	trüb
Perforationszeit	11 Stunden	11 Stunden	11 Stunden
Roh-Theobromin, Auswaage in mg	61,6 mg	63,0 mg	61,3 mg
Rein-Theobromin nach *Kjeldahl*	54,27 mg	55,17 mg	54,72 mg
Reinheit des Roh-Theobromins	88,0 %	87,5 %	89,3 %
Theobromin in der fett- und wasserfreien Kakaomasse	**3,42 %**	**3,47 %**	**3,44 %**

Pritzker und *Jungkunz* (7) schreiben eine Perforationszeit von 8 Stunden vor. In Modellversuchen, bei welchen reines Theobromin in mit Magnesiumoxid gesättigtem Wasser aufgelöst und mit Chloroform perforiert wurde, fanden *Hadorn* und *Jungkunz* (8) nach 6 Stunden das gesamte Theobromin (100 mg) im Abdampfrückstand des Chloroforms. Bei Schokoladen ist eine Perforationszeit von 6—8 Stunden jedoch völlig ungenügend, wie nachstehender Versuch zeigt.

100 ml eines nach Vorschrift durch Kochen von 15 g dunkler Schokolade mit 3 g Magnesiumoxid und 200 ml Wasser erhaltenen filtrierten Auszuges wurden im Perforator nach *Pritzker* und *Jungkunz* perforiert. Das Kölbchen wurde in bestimmten Zeitabständen gewechselt, das Cloroform abdestilliert, der Rückstand gewogen und anschließend in jedem Kölbchen der Stickstoffgehalt nach *Kjeldahl* bestimmt. Die Resultate sind in der Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 2 Ausbeute an Theobromin nach verschiedenen Perforationszeiten

Perforationszeit	Abdampfrückstand in mg	Nach Kjeldahl ber. als Theobromin in mg	Ausbeute nach	
			Std.	in %
nach 4 Stunden	85,2	68,25	4	83,4
nach weiteren 2 Stunden	9,7	8,37	6	93,6
nach weiteren 2 Stunden	4,2	3,20	8	97,6
nach weiteren 3 Stunden	2,2	1,49	11	99,4
nach weiteren 3 Stunden	0,9	0,54	14	100,0



Theobrominausbeute in Abhängigkeit der Perforationszeit

Die Resultate sind in Figur 1 graphisch dargestellt. Aus dem Kurvenverlauf ergibt sich für obige Schokolade und den von uns verwendeten Perforator eine sogenannte «Halbwertzeit» von ca. $1^1/_2$ Stunden. Nach dieser Zeit ist die Hälfte

des Theobromins aus der wässerigen Phase extrahiert. In weiteren $1^1/_2$ Stunden wird aus der wässerigen Phase wiederum die Hälfte des noch Vorhandenen perforiert. In der wässerigen Phase verbleibt nach total 3 Stunden noch $^1/_4$ des ursprünglichen Theobromins. Für eine «Halbwertszeit» von $1^1/_2$ Stunden ergibt sich die in Tabelle 3 dargestellte geometrische Reihe.

Tabelle 3 Theobromin-Anteil in der wässerigen Phase und Perforationsausbeute, (in Abhängigkeit der Zeit) berechnet aus der «Halbwertszeit»

Perforationszeit in Stunden	In der wässerigen Lösung verbliebenes Theobromin	Perforationsausbeute in %
nach $1^1/_2$ Stunden	$^1/_2$	50
nach 3 Stunden	$^1/_4$	75
nach $4^1/_2$ Stunden	$^1/_8$	87,5
nach 6 Stunden	$^1/_{16}$	93,8
nach $7^1/_2$ Stunden	$^1/_{32}$	96,9
nach 9 Stunden	$^1/_{64}$	98,4
nach $10^1/_2$ Stunden	$^1/_{124}$	99,2

Bei Schokoladen wird das Theobromin durch die Perforation viel langsamer aus der wässerigen Phase entzogen als bei Modellversuchen mit reinem Theobromin in Wasser. Durch den Zucker und andere wasserlösliche Stoffe wird die Perforation merklich verzögert. Man muß daher 10—12 Stunden perforieren, um das Coffein und Theobromin annähernd quantitativ (d. h. mit einer Ausbeute von 99 %) zu erhalten.

Reinheit des isolierten Coffeins und Theobromins

Nach *Pritzker* und *Jungkunz* (7) soll das durch Perforation erhaltene Theobromin rein sein. *Hadorn* und *Jungkunz* (8) fanden im Perforationsrückstand aus entfetteter Kakaomasse 95,8 bzw. 97,5 %iges Theobromin. Bei zahlreichen seither ausgeführten Versuchen zeigte sich, daß der Abdampf-Rückstand nach der Perforation oft viel stärker verunreinigt ist und die Menge der Verunreinigungen stark variiert. Der Alkaloidgehalt (berechnet aus dem Stickstoffgehalt nach *Kjeldahl*) bewegt sich zwischen 87 und 99 %. Aus Milchschokoladen erhält man meistens unreineres Theobromin als aus dunkler Schokolade oder reiner Kakaomasse. Um einigermaßen zuverlässige Analysen zu erhalten, muß demnach immer eine *Kjeldahl*-Bestimmung ausgeführt werden. Die von *Hadorn* und *Jungkunz* publizierten Theobromin- und Coffeinwerte für Kakaobohnen sind deshalb nicht unbedingt zuverlässig und dürften zum Teil etwas zu hoch liegen.

Theobrominverluste durch Adsorption an Magnesiumoxid?

Das Erhitzen der Schokolade mit Magnesiumoxid und Wasser hat zunächst den Zweck, das im Kakao chemisch gebundene Alkaloid abzuspalten. Ferner hat

das Magnesiumoxid die Aufgabe, verschiedene wasserlösliche Bestandteile des Kakaos, wie Eiweiß, Kakaorot, Säuren und Gerbstoffe auszufällen oder zu adsorbieren, so daß ein einigermaßen klares Filtrat oder Zentrifugat erhalten wird, das sich ohne Störung perforieren läßt. Da Magnesiumoxid ein gutes Adsorptionsmittel für viele wasserlösliche Stoffe ist, war zu prüfen, ob unter den gegebenen Versuchsbedingungen Theobromin und Coffein nicht adsorbiert werden.

In Modellversuchen wurden bekannte Mengen Theobromin oder Coffein mit Magnesiumoxid und 200 ml Wasser während 10 Minuten gekocht, abgekühlt, das verdampfte Wasser ergänzt, der Niederschlag abzentrifugiert und 100 ml der klaren, überstehenden Lösung mit Chloroform erschöpfend perforiert. Schließlich wurde im Abdampf-Rückstand der Stickstoffgehalt nach *Kjehldahl* bestimmt. Die Resultate sind in der Tabelle 4 zusammengestellt. Bei den Versuchen mit 3 g frischem Magnesiumoxid wurden beträchtliche Theobrominverluste beobachtet. Daß es sich dabei um eine Adsorption und nicht etwa um eine chemische Zersetzung des Alkaloids handelt, wird durch Versuch Nr. 4 mit wenig Magnesiumoxid (nur 0,1 g) bewiesen. In diesem Versuch war die wässerige Lösung ebenfalls an Magnesiumhydroxid gesättigt (ungelöster Bodenkörper) und reagierte auf Phenolphtalein stark alkalisch. Die Verluste waren jedoch nur unbedeutend, weil viel weniger Adsorbens (1/30) vorhanden war. Auch die Qualität des Magnesiumoxids hat einen Einfluß auf die Adsorptionsverluste. Mit einem sehr alten, karbonat- und wasserhaltigen Präparat (mit 30,5 % CO_2) wurde praktisch keine Adsorption beobachtet. Coffein wird selbst von frischem aktivem Magnesiumoxid nicht in nennenswerten Mengen adsorbiert, was durch die Versuche 6 und 7 bewiesen wird.

Tabelle 4 Versuche über die Adsorptionsverluste von Theobromin und Coffein an Magnesiumoxid

Alkaloid, MgO und 200 ml Wasser wurden während 10 Minuten gekocht

Versuch Nr.	Alkaloid	Einwaage mg	Magnesiumoxid Qualität	MgO-Menge g	Alkaloid-Ausbeute im wässerigen Auszug
1	Theobromin	180,6	frisches MgO (DAB)	3,0	81,4 %
2	Theobromin	140,7	frisches MgO (DAB)	3,0	76,7 %
3	Theobromin	90,1	frisches MgO (DAB)	3,0	78,2 %
4	Theobromin	185,3	frisches MgO (DAB)	0,1	98,8 %
5	Theobromin	181,2	altes inaktives MgO	3,0	98,1 %
6	Coffein	205,1	frisches MgO (DAB)	3,0	99,9 %
7	Coffein	4,0	frisches MgO (DAB)	2,0	99,8 %*

* Spektrophotometrisch bei 272 mμ bestimmt

Nach diesen Versuchen, die zeigen, daß über 20 % des vorhandenen Theobromins adsorptiv vom Magnesiumoxid zurückgehalten werden, erschien die ganze Methode *Pritzker* und *Jungkunz* recht problematisch und wenig zuverlässig. Versuche mit Schokolade ergaben jedoch, daß in diesem Fall überhaupt kein Theobromin vom Magnesiumoxid adsorptiv zurückgehalten wird. Je 15 g einer dunklen Schokolade wurden nach der am Schluß dieser Arbeit angegebenen Vorschrift mit 3 g Magnesiumoxid und 200 ml Wasser während 10 Minuten gekocht.

In einem Versuch wurde aktives Magnesiumoxid, im andern Versuch altes inaktives Magnesiumoxid verwendet. Die Resultate sind in der Tabelle 5 aufgeführt. Durch das alte Präparat wurde die wässerige Lösung nur sehr mangelhaft geklärt, sie erschien dunkel. Verluste durch Adsorption waren nicht zu befürchten, da dieses Präparat im Modellversuch (Tabelle 4) praktisch kein Adsorptionsvermögen für Theobromin mehr besaß. Mit dem frischen Magnesiumoxidpräparat dagegen war die wässerige Lösung gut geklärt. Im Endergebnis (nach *Kjeldahl)* gaben jedoch beide Versuche praktisch den gleichen Theobromingehalt. Von Adsorptionsverlusten mit dem frischen Magnesiumoxid war nichts zu bemerken. Die aktiven Zentren des Magnesiumoxids, die für eine Adsorption von Theobromin in Frage kämen, werden vermutlich durch andere Stoffe, die in Kakao oder Schokolade in viel größeren Mengen enthalten sind, abgesättigt, so daß der Adsorption von Theobromin keine Bedeutung zukommt.

Tabelle 5 Einfluß der Qualität des Magnesiumoxids auf Kläreffekt und Ausbeute

Dunkle Schokolade A mit 21,9 % fett- und wasserfreier Kakaomasse

	Altes MgO-Präparat ohne Adsorptionsvermögen für Theobromin	Frisches MgO nach DAB
Aussehen des wässerigen Filtrates	dunkel, rotbraun leicht trüb	hellgelb leicht trüb
Roh-Theobromin-Auswaage nach 14stündiger Perforation	67,6 mg	63,2 mg
«Theobromin» ber. aus *Kjeldahl*-Bestimmung*	57,22 mg	57,76 mg
Reinheit des Perforationsrückstandes	84,6 %	91,4 %
«Theobromin» in der fett- und wasserfreien Kakaomasse*	3,49 %	3,52 %

* «Theobromin» = Gesamtalkaloid aus dem N-Gehalt nach *Kjeldahl* berechnet als Theobromin.

II. Analyse von Schokoladeprodukten bekannter Zusammensetzung

Die Brauchbarkeit der Theobrominbestimmung zur Berechnung der fettfreien Kakaomasse sollte nun an einigen praktischen Beispielen ausprobiert werden. Zunächst wurden eine Milchschokolade bekannter Zusammensetzung und gleichzeitig eine Probe der zur Fabrikation dieser Schokolade verwendeten Kakaomasse untersucht. Die Analysen ergaben folgende Zahlen:

Kakaomasse (Ausgangsprodukt)

Wasser	2,50 %	2,52 %
Fett	55,28 %	55,46 %
fett- und wasserfreie Kakaomasse (Mittel)	42,1 %	
«Theobromin»-Gehalt in fett- und wasserfreier Kakaomasse (Mittelwert und Standardabweichung berechnet aus 7 Bestimmungen; siehe Tabelle 8, Nr. 16)	3,33 % ± 0,06	

Milchschokolade (Endprodukt)

«Theobromin»-Gehalt	0,121 %	
	0,129 %	Mittel = 0,127 %
	0,131 %	

Unter «Theobromin» ist der Gesamtalkaloidgehalt (Theobromin + Coffein) zu verstehen. Er wurde aus dem Stickstoffgehalt nach *Kjeldahl* als Theobromin berechnet. Aus dem «Theobromin»-Gehalt der Kakaomasse einerseits und demjenigen der Schokolade anderseits läßt sich die fett- und wasserfreie Kakaomasse der Schokolade wie folgt berechnen:

fett- und wasserfreie Kakaomasse in der Schokolade $= \frac{0{,}127 \cdot 100}{3{,}33} =$ **3,8 %**

theoretischer Wert, berechnet aus der Rezeptur **3,5 %**

Nach Abschluß der Analyse teilte uns die Fabrik mit, daß die analysierte Milchschokolade nach Rezept 8,29 % obiger Kakaomasse enthielt. Da der Anteil an fett- und wasserfreier Kakaomasse 42,1 % betrug, berechnet sich der Gehalt an fett- und wasserfreier Kakaomasse der Schokolade zu $0{,}421 \cdot 8{,}29 = 3{,}5$ %.

Die Übereinstimmung mit dem aus unserer Analyse der Schokolade berechneten Wert (3,8 %) ist befriedigend. Auf Grund der relativ geringen Versuchsstreuung bei der Theobrominbestimmung (relat. Standardabweichung oder Variationskoeffizient ± 1,5 %) wäre allerdings eine bessere Übereinstimmung zu erwarten. Möglicherweise ist bei der fabrikmäßigen Herstellung der Schokolade die Rezeptur nicht genau eingehalten worden.

Anschließend sind 3 weitere Schokoladenerzeugnisse in gleicher Weise untersucht worden. Bei der Fabrikation wurde streng darauf geachtet, daß die Rohmaterialien peinlich genau abgewogen, die Rezeptur eingehalten und jeweils eine Probe der verarbeiteten Kakaomasse entnommen wurden. Die Resultate sowie die aus der Rezeptur berechneten Werte sind in der Tabelle 6 zusammengestellt.

Die in der Fertigware gefundenen Theobromingehalte stimmten durchwegs befriedigend mit den theoretisch berechneten Werten überein.

Die Berechnung der fettfreien Kakaomasse aus dem gefundenen Theobromingehalt erfolgte einmal mit Hilfe des wahren Theobromingehaltes der verarbeiteten Kakaomasse. In der Praxis ist jedoch dieser Wert meistens nicht bekannt; man muß daher einen statistischen Mittelwert einsetzen. Auf Grund der Analysen im nächsten Abschnitt beträgt dieser Mittelwert für fettfreie Kakaomasse 3,2 %. In der Tabelle 6 sind die Theobromingehalte der 3 Erzeugnisse auch mit diesem Mittelwert berechnet worden. Man erhält nach beiden Berechnungsarten einigermassen übereinstimmende, für die Praxis genügend genaue Resultate, die mit den wirklichen Gehalten übereinstimmen. Damit dürfte bewiesen sein, daß sich mittels der Theobrominbestimmung die fettfreie Kakaomasse selbst in kompliziert zusammengesetzten Schokolade-Erzeugnissen, wie Gianduja-Masse, recht genau ermitteln läßt.

Tabelle 6 Analysen von Kakaomasse und den daraus fabrizierten Erzeugnissen

	Dunkle Schokolade %		Milch-Schokolade %		Kakaohaltige Haselnußmasse (Gianduja) %	
Zusammensetzung der verarbeiteten Kakaomasse						
fett- und wasserfreie Kakaomasse	45,81		40,80		45,11	
Theobromin in der fett- und wasserfreien Kakaomasse	3,09		3,50		3,05	
Rezeptur						
Anteil an Kakaomasse im Fertigprodukt	36,35		8,29		9,64	
Anteil an fett- und wasserfreier Kakaomasse im Fertigprodukt	16,65		3,38		4,35	
Fertigprodukt						
Theobromingehalt gefunden	0,513	0,526	0,122	0,131	0,141	0,145
Theobromingehalt theoretisch nach Rezept	0,515		0,118		0,133	
fett- und wasserfreie Kakaomasse ber. mit mittlerem Theobromingehalt (3,2 %)	16,0	16,4	3,82	4,10	4,40	4,53
ber. mit wahrem Theobromingehalt der verarbeiteten Kakaomasse	16,6	17,0	3,48	3,74	4,61	4,75
theoretisch aus Rezeptur berechnet	16,65		3,38		4,35	

III. Analysen von Kakaobohnen und von Kakaomasse

Damit aus dem Theobromingehalt (eigentlich dem Gesamtalkaloidgehalt) einer Schokolade die fettfreie Kakaomasse berechnet werden kann, muß man, wie bereits erwähnt, den Theobromingehalt der verwendeten Kakaomasse kennen. In der Praxis ist dies meistens nicht der Fall. Daher sollte man wenigstens über einen vertrauenswürdigen Mittelwert für den Theobromingehalt der Kakaomasse verfügen.

In der Literatur findet man bereits verschiedene Zahlenangaben über Theobromingehalte, die z. T. jedoch nach mangelhaften Methoden erhalten wurden und mit Vorsicht aufzunehmen sind. In der Tabelle 7 sind die uns zugänglichen Theobromingehalte der Literatur aufgeführt.

Tabelle 7 Gesamtalkaloidgehalte (Theobromin und Coffein) von Kakao. Werte aus der Literatur, umgerechnet auf fett- und wasserfreie Kakaomasse

Autor	Anzahl Proben N	Grenzwerte	Mittelwert $\bar{x}$	Standard-Abweichung s	Streubereich t · s (P = 95 %)
Pritzker und *Jungkunz* (7)	5	3,14—3,67	3,45	0,21	± 0,58
Fincke (6)	8	3,00—4,18	3,54	0,33	± 0,78
Winton (11)	17	2,56—3,62	3,07	0,33	± 0,70
Hadorn und *Jungkunz* (8)	14	3,07—4,00	3,49	0,27	± 0,58

Bei allen diesen Werten wurde keine Stickstoffbestimmung nach *Kjeldahl* ausgeführt. Die Theobromingehalte dürften daher etwas zu hoch liegen.

Um sie durch neue, zuverlässige Analysen zu ergänzen und gleichzeitig Anhaltspunkte über die Versuchsstreuung zu erhalten, haben wir in verschiedenen Proben von Kakaobohnen, Kakaomasse und Kakao den Theobromin- und Coffeingehalt nach der am Schluß dieser Arbeit angegebenen Methode ermittelt. Die verschiedenen Muster von Kakaobohnen und Kakaomasse wurden mir freundlicherweise von den Firmen Nestle & Co., Vevey; Suchard Holding S. A., Neuchâtel und Chocolat Lindt & Sprüngli AG., Kilchberg-Zürich zur Verfügung gestellt, wofür ich an dieser Stelle bestens danke.

In der Tabelle 8 sind die Resultate der verschiedenen Produkte zusammengestellt. Alle Werte sind auf fett- und wasserfreie Kakaomasse berechnet.

Zunächst werden nur die Gesamtalkaloidgehalte der letzten Kolonne besprochen, da dieselben für die Praxis am wichtigsten sind. Anschließend folgen noch einige statistische Angaben über die Korrelation zwischen Theobromin- und Coffeingehalt, sowie über den Streubereich der Theobrominbestimmung und die natürlichen Schwankungen des Gesamtalkaloidgehaltes in Kakaomasse.

Kakaobohnen

Die verschiedenen Kakaobohnen haben wir zunächst entschält und zerkleinert. Vor der Theobrominbestimmung wurde das abgewogene Untersuchungsmaterial mit Quarzsand und etwas Wasser möglichst fein zerrieben, um die Zellverbände aufzuschließen und die Alkaloide freizulegen.

Weil wir in den Kakaobohnen auf diese Weise zum Teil auffallend niedrige Alkaloidgehalte fanden (Nr. 3 Kakaobohne Côte d'Ivoire) bestand der Verdacht, daß die mechanische Zerkleinerung der Kakaobohnen trotz innigem Zerreiben im Mörser noch ungenügend war und die Alkaloide bei der Analyse nicht quantitativ in den wässerigen Extrakt gelangten. Es wurden daher noch 3 Proben Kakaomassen untersucht, die im Laboratorium der Suchard Holding S. A. speziell für Versuchszwecke hergestellt worden waren. Diese 3 Proben wurden nach dem Rösten gebrochen, die Kakaoschalen von den Kernen getrennt und letztere auf einem Walzwerk maschinell fein zerkleinert. Auch unter diesen sehr fein zerkleinerten Kakaomassen befand sich eine Kakaosorte (Nr. 10 Carenero) mit niedrigem Alkaloidgehalt. An der Zuverlässigkeit unserer Resultate ist somit kaum zu zweifeln.

In den Kakaobohnen fanden wir fast durchwegs etwas niedrigere Gesamtalkaloidgehalte (2,5—3,2 %) als in der Literatur angegeben wird (siehe Tabelle 7). Dies mag zum Teil auf zufällig etwas theobrominarme Proben, zum Teil aber auch auf unsere verbesserte Untersuchungsmethode zurückzuführen sein. Bei den älteren Methoden wurden die isolierten Alkaloide ausgewogen und eventuelle Verunreinigungen, die bis 20 % betragen können, ebenfalls mitbestimmt.

Auffallend niedrig sind die Gesamtalkaloidgehalte, wie erwähnt, in den Kakaobohnen der Côte d'Ivoire (Nr. 3) und der Kakaomasse aus Carenero-Kakaobohnen (Nr. 10). Die Werte liegen knapp unter 2,5 % in der fettfreien Trockenmasse. Die übrigen Proben weisen höhere Alkaloidgehalte auf und bewegen sich zwischen 2,7 und 3,3 %.

Kakaomasse für Schokoladefabrikation

Zu Schokoladefabrikation verwendet man in der Regel Mischungen aus Kakaobohnen verschiedener Provenienz. Die daraus hergestellten Kakaomassen weisen meistens mittlere Alkaloidgehalte auf, die weniger stark variieren als in Kakaobohnen reiner Sorten. Bei den 8 von uns untersuchten Kakaomassen aus Betrieben bewegte sich der Gesamtalkaloidgehalt zwischen 2,95 und 3,5 %. Das Mittel aus den 8 Proben beträgt 3,2 %.

Kakaopulver und dunkle Schokolade

Die 3 von uns untersuchten Kakaopulver des Handels wiesen ähnliche Gesamtalkaloidgehalte auf wie die Kakaomassen. Relativ niedrig ist der Alkaloidgehalt im Kakaopulver aus St. Tomé-Kakaobohnen (2,84 %), auffallend hoch ist er im Holländischen Kakaopulver (3,44 %). Die beiden speziell dunklen Schokoladen (Nr. 24 und 25) enthalten ebenfalls Kakaomasse mit hohem Theobromingehalt (3,5 %). Vermutlich ist für beide Schokoladen die gleiche Kakaomasse verwendet worden.

Tabelle 8 Theobromin- und Coffeingehalte in fettfreier Kakaomasse

Nr.	Bezeichnung	Rein-Theobromin %		Coffein %		Gesamtalkaloide ber. als Theobromin %	
	Kakaobohnen selber geschält und zerkleinert (Keimwürzelchen nicht entfernt)						
1	Kakaobohnen Arriba Supérieur	2,52		4,40		2,94	2,90
2	Kakaobohnen Bahia Supérieur (Brasilien)	2,81	2,93	0,24	0,19	3,04	3,10
3	Kakaobohnen Côte d'Ivoire (Afrika)	2,43	2,32	0,11	0,08	2,45 2,41	2,54
4	Kakaobohnen Côte d'Ivoire (Afrika)	2,92		0,08		3,00	3,04
5	Kakaobohnen Ghana fermentiert (Afrika)	3,09	3,14	0,10	0,10	3,19	3,23
6	Kakaobohnen Grandes Comores	1,78 1,73	1,63	1,33 1,38	1,48	3,02 3,01	3,01
7	Kakaobohnen Java fin (Edelkakao)	2,00	2,12	0,77	0,60	2,72	2,68
8	Kakaobohnen Samoa (Edelkakao)	2,35	2,60	0,84	0,63	3,13	3,19
9	Kakaokernbruch Arriba	2,64	2,65	0,44	0,42	3,05	3,04
	Kakaomasse, labormäßig hergestellt im Laboratorium der Suchard Holding S. A.						
10	Kakaomasse aus Kakaobohnen Carenero (Venezuela)	1,98		0,50		2,45	2,45
11	Kakaomasse aus Kakaobohnen Bahia (Brasilien)	2,87		0,41		3,31	3,25
12	Kakaomasse aus Kakaobohnen Accra (Ghana)	3,00	3,10	0,19	0,14	3,15	3,23

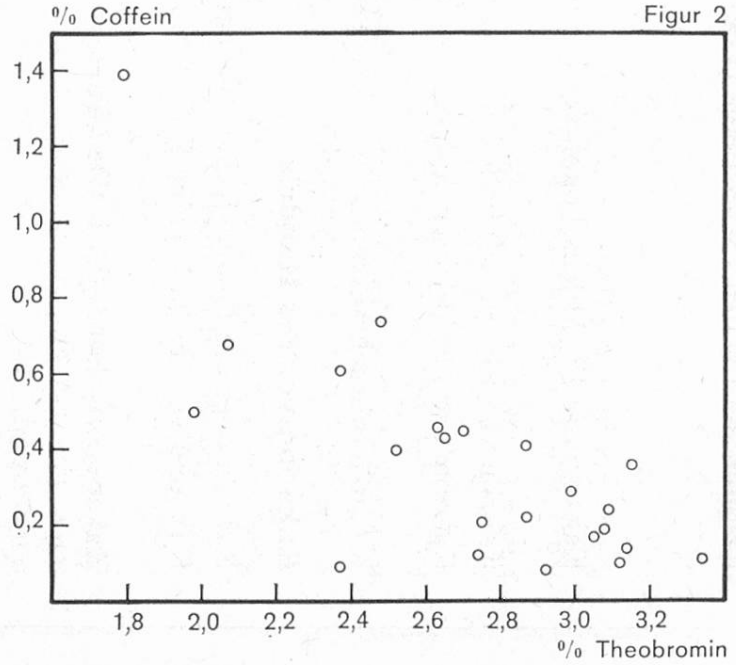
	Kakaomasse aus Betrieben						
13	Kakaomasse für dunkle Schokolade (Suchard)	3,08		0,19		3,38	3,25
14	Kakaomasse für Bitterschokolade (Lindt)	2,70		0,45		3,12 3,18	3,17
15	Kakaomasse für helle Schokolade (Suchard)	2,75		0,21		3,04	2,95
16	Kakaomasse für helle Schokolade (Lindt)	3,11	3,07	0,27	0,21	3,36 3,28 3,42 3,28	3,26 3,35 3,36
17	Kakaomasse für Milchschokolade (Lindt)	2,99		0,29		3,27 3,30	3,33
18	Kakaomasse für speziell helle Schokolade (Lindt)	2,37		0,61		2,93	2,96
19	Kakaomasse für Milchschokolade (Lindt)	3,16	3,14	0,37	0,35	3,50 3,53	3,46
20	Kakaokernbruchmischung für milchfreie Schokolade (Lindt)	2,61	2,66	0,46		3,10	3,09
	Kakaopulver des Handels						
21	Kakaopulver aus Ghana-Kakao (Suchard)	3,13	3,14	0,14	0,14	3,26	3,27
22	Kakaopulver aus San. Tomé-Kakao (Suchard)	2,74 2,50	2,71	0,10 0,40	0,12	2,83 2,86	2,82 2,82
23	Kakaopulver holländisch (De Gruyter)	3,34		0,11		3,42 3,44	3,47
	Dunkle Schokolade, milchfrei						
24	Schokolade A mit 21,9 % fett- und wasserfreier Kakaomasse					3,51 3,49	3,52
25	Schokolade B mit 30,9 % fett- und wasserfreier Kakaomasse					3,55	3,51

IV. Statistische Auswertung

Das in Tabelle 8 aufgeführte Zahlenmaterial wurde statistisch ausgewertet. Es werden Angaben über die Reproduzierbarkeit, den Streubereich der Methode sowie über die natürlichen Schwankungen der Theobromin- und Coffeingehalte von Kakaomasse gemacht.

Korrelation zwischen Coffein- und Theobromingehalt

In den meisten Kakaomassen haben wir den bei der Perforation erhaltenen Alkaloidrückstand in Coffein und Theobromin aufgetrennt und die beiden Alkaloide einzeln nach *Kjeldahl* bestimmt (siehe Methodik). Um den Zusammenhang zwischen Coffein- und Theobromingehalt der fettfreien Kakaomasse zu prüfen, wurden die Resultate der Tabelle 8 in der Figur 2 graphisch dargestellt. Es wurden die Coffein- gegen die Theobromingehalte aufgetragen. Der Punkteschwarm zeigt eine deutliche, wenn auch lockere Korrelation. Niedrigen Coffeingehalten entsprechen in der Regel hohe Theobromingehalte und umgekehrt. Jedes der beiden Alkaloide schwankt innerhalb weiter Grenzen. Coffein: 0,18—1,39; Theobromin 1,79—3,34 %. Ob in der reifen unfermentierten Kakaobohne bereits von Natur aus derart unterschiedliche Mengen Coffein enthalten sind, oder ob eventuell während der Fermentation oder beim Waschen der Kakaobohnen ein Teil des gut wasserlöslichen Coffeins herausdiffundiert und weggewaschen wird, ist nicht abgeklärt.



Korrelation zwischen Coffein- und Theobromingehalt

Wesentlich geringer als bei den einzelnen Alkaloiden sind die Schwankungen für die Summe der beiden Alkaloide (2,45—3,5 %). Für die Berechnung der fettfreien Kakaomasse aus dem Alkaloidgehalt ist es daher zweckmäßiger, die Summe der beiden Alkaloide zu verwenden. Wir berechnen sie aus der *Kjeldahl*-Bestimmung und zwar immer als Theobromin. Dabei ist zu berücksichtigen, daß die Umrechnungsfaktoren für Theobromin (1 ml 0,1 n-HCl = 4,502 mg) und Coffein (1 ml 0,1 n-HCl = 4,85 mg) nicht gleich sind. Bei Kakaomassen, die beträchtliche Mengen Coffein enthalten, gibt die Berechnung aus dem N-Gehalt, ausgedrückt in Theobromin etwas zu niedrige Resultate. Da für die Praxis eine Trennung von Coffein und Theobromin zu umständlich und auch überflüssig ist, haben wir uns bei allen weiteren Analysen mit dem Gesamtalkaloidgehalt begnügt und bezeichnen ihn als «Theobromin».

Reproduzierbarkeit und Streubereich der Alkaloidbestimmung

Die Gesamtalkaloidbestimmung ist recht gut reproduzierbar. Von der Kakaomasse Nr. 16 lagen 7 Theobrominbestimmungen von verschiedenen Analytikern aus dem gleichen Laboratorium vor. Aus diesen Zahlen berechnet sich in der fett- und wasserfreien Kakaomasse ein Mittelwert $\bar{x}$ von 3,33 % Theobromin und eine Standardabweichung von ± 0,058. Der Variationskoeffizient $V = \frac{100 \cdot s}{\bar{x}}$ beträgt 1,7 %, was als gut zu bezeichnen ist. Aus den Zahlen der Tabelle 8 (64 Einzelbestimmungen an 25 Proben) läßt sich die Standardabweichung aus sämtlichen Proben nach folgender Formel berechnen:

$$s = \sqrt{\frac{\Sigma (x_{i1}-\bar{x}_1)^2 + \Sigma (x_{i2}-\bar{x}_2)^2 + \ldots + \Sigma (x_{im}-\bar{x}_m)^2}{N-M}}$$

x_{i1} = Meßwerte der 1. Gruppe
$\bar{x}_1$ = Mittelwert der 1. Gruppe
$\bar{x}_m$ = Mittelwert der m-ten Gruppe
N = Zahl aller Analysen (64 Einzelbestimmungen)
M = Zahl der Proben (25)

Die Rechnung ergab eine Standardabweichung s = ± 0,043

Die «relative Standardabweichung» oder der Variationskoeffizient
$V = \frac{100 \cdot s}{\bar{x}}$ beträgt ca. 1,3 %, was als sehr gut zu bezeichnen ist.

Man findet praktisch ungefähr die gleichen Variationskoeffizienten, gleichgültig ob die Standardabweichung aus 7 Bestimmungen an einer einzigen Probe oder aus 64 Bestimmungen an 25 Proben berechnet wird.

Zur Berechnung des Streubereichs Δx der Methode gilt die Formel:

$$= t (P, n) \cdot s$$

Der Faktor t für die statistische Sicherzeit P und die Anzahl Freiheitsgrade n wird einer Tabelle entnommen (siehe *Doerffel* [12] Tabelle 5, S. 85). In unserem Beispiel beträgt für die statistische Sicherheit P = 95 % und 39 Freiheitsgrade der Faktor t = 2,02.

Der Wiederhol-Streubereich beträgt somit 2,02 · 0,044 = ± 0,09. Dies besagt, daß bei Wiederholungen im gleichen Laboratorium von 20 Bestimmungen höchstens ein Resultat um mehr als obigen Betrag vom wahren Wert (Mittel) abweicht.

Natürliche Schwankungen des Theobromingehaltes und Vertrauensbereich

Auf Grund der Resultate von Kakaobohnen (Tabelle 8) läßt sich die Gesamtalkaloidbestimmung sehr gut reproduzieren. Der Theobromingehalt der verschiedenen Kakaomassen, die zur Schokoladefabrikation verwendet werden, variieren jedoch ziemlich stark. Für die Berechnung der fettfreien Kakaomassen von Schokoladen unbekannter Zusammensetzung aus dem Gesamtalkaloid wird ein mittlerer «Theobromin»-Gehalt der fettfreien Kakaomasse von 3,2 % angenommen.

Es läßt sich nun statistisch berechnen, wie groß der Vertrauensbereich eines auf obige Weise berechneten Analysenresultates ist. In Tabelle 8 haben wir 8 Kakaomassen, wie sie in den Schokoladefabriken heute verarbeitet werden, untersucht (Nr. 13—20). Jede dieser Kakaomassen stellt bereits eine Mischung aus verschiedenen Kakaosorten her. Wir berechneten zuerst aus den Einzelbestimmungen (der Tabelle 8) die Mittelwerte für sämtliche Kakaomassen und hieraus den Mittelwert aus den 8 Kakaomassen und die dazugehörige Standardabweichung. Es ergaben sich folgende Werte:

Kakaomasse Nr.	Gesamtalkaloidgehalt ber. als Theobromin (Mittel aus 2—7 Bestimmungen)
13	3,32 %
14	3,16 %
15	3,00 %
16	3,33 %
17	3,30 %
18	2,95 %
19	3,50 %
20	3,10 %
Mittelwert $\bar{x}$ =	**3,21 %**
Standardabweichung s =	± 0,187

Der Streubereich Δ x für die statistische Sicherheit P = 95 % berechnet sich nach der Formel $\Delta x = t \cdot s$. Der Faktor t wird wiederum einer Tabelle entnommen. t (P = 95 %, n = 7) = 2,37.

Der Streubereich $\Delta x = t \cdot s = \pm 2{,}37 \cdot 0{,}187 = 0{,}44$ %.

Dies besagt, daß bei 95 % der in der Schokoladeindustrie verarbeiteten Kakaomassen der Theobromingehalt innerhalb dieser Schranken liegt (3,21 ± 0,44 % oder 2,77—3,65 %).

Die aus der natürlichen Schwankung des Theobromingehaltes sich ergebende Unsicherheit überträgt sich auch auf alle Analysenresultate, die aus dem Theobromingehalt berechnet worden sind. In relativen Zahlen beträgt der Streubereich

$$\Delta \text{ x relat.} = \frac{0{,}443}{3{,}208} \cdot 100 = 13{,}8\ \%$$

Dies soll an einem Beispiel erläutert werden.

In einer halbsüßen Milchschokolade berechnete sich aus dem gefundenen Theobromingehalt die fettfreie Kakaomasse zu 7,3 %. Dieser Wert ist mit einer gewissen Unsicherheit behaftet, weil der Theobromingehalt der verwendeten Kakaomasse ja nicht bekannt ist. Für die statistische Sicherheit P = 95 % beträgt der relative Streubereich ± 13,8 %. Auf obiges Resultat bezogen (13,8 % von 7,3) = 1,01.

Der wahre Gehalt an fettfreier Kakaomasse obiger Milchschokolade liegt mit 95 % Wahrscheinlichkeit zwischen 6,3 und 8,3 %.

Die aus dem «Theobromin»-Gehalt berechneten Gehalte an fettfreier Kakaomasse sind aus diesen Gründen nicht sehr genau. Bei einfach zusammengesetzten Schokoladen, die nur Kakaomasse und Zucker enthalten, führt die Berechnung der fettfreien Kakaomasse aus der Differenz zweifellos zu genaueren Resultaten. Bei Schokoladen mit Haselnuß- oder Mandelmasse dagegen ist die Berechnung der fettfreien Kakaomasse aus dem Theobromin die einzige brauchbare Methode.

Es ist vorgesehen, in einer späteren Arbeit über vergleichende Untersuchungen zu berichten, die in zwei Laboratorien an Kakaomassen und Schokoladen des Handels ausgeführt worden sind.

Arbeitsvorschrift zur Bestimmung von Coffein und Theobromin in Schokolade, Kakao und Kakaomasse

Prinzip

1. Eine abgewogene Menge des Untersuchungsmaterials wird mit Magnesiumoxid und Wasser versetzt und gekocht, wobei Theobromin und Coffein in Lösung gehen. Nach dem Abkühlen wird das verdampfte Wasser ersetzt, die Lösung filtriert und ein aliquoter Teil des Filtrates mit Chloroform perforiert. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels hinterbleiben die Alkaloide, Theobromin und Coffein und geringe Mengen Verunreinigungen. Die beiden Alkaloide lassen sich auf Grund ihrer verschiedenen Löslichkeit in Äther trennen. Den Gehalt an Rein-Theobromin bzw. Rein-Coffein bestimmt man nach *Kjeldahl.*

Reagenzien

2. a) *Magnesiumoxid,* leicht, rein.

b) *Chloroform* rein

c) *Katalysator-Mischung,* 100 g Kaliumsulfat, 3 g gelbes Quecksilberoxid und 0,3 g Selenpulver werden im Mörser fein verrieben und gut gemischt.

d) *Natronlauge-Thiosulfatlösung*, 100 ml 50%ige Natronlauge und 25 ml 8%ige Thiosulfatlösung werden gemischt.

e) *Zweistufiger Mischindikator* für die Titration in Borsäure. 0,35 g Bromkresolgrün werden in einem 250 ml Meßkolben in 10 ml 96 %igem Alkohol gelöst. Zur Farbstofflösung werden folgende Zusätze gemacht: 10,00 ml 0,1 n-Natronlauge; 200 ml Wasser; 22,0 ml 1 %ige wäßrige Neu-Coccinlösung; 0,75 g p-Nitrophenol, gelöst in 5 ml 96 %igem Alkohol.

Das Flüssigkeitsvolumen wird mit Wasser bis zur Marke ergänzt. Gibt man 3 Tropfen fertigen Mischindikator zu 10 ml Acetat-Puffer (pH 4,6), so muß eine Graubraun-Färbung resultieren. Ist dies nicht der Fall, so wird der Indikator durch Zugabe von Neu-Coccin- resp. Bromkresolgrünlösung korrigiert.

f) *Borsäure-Indikator-Mischung*. 40 g reine Borsäure werden in einem 2 l Meßkolben mit ca. 1700 ml Wasser gelöst, 15 ml zweistufiger Mischindikator (e) zugesetzt und das Flüssigkeitsvolumen mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt.

Apparatur

3. a) *Perforator* z. B. nach *Pritzker* und *Jungkunz*.

b) Infrarotstrahler mit Wärmeregulierung (z. B. der Fa. Büchi, Flawil).

c) *Kjeldahl-Destillationsapparatur* nach *Parnas Wagner* oder nach *Büchi*.

Ausführung der Bestimmung

4. a) *Herstellung des wässerigen Auszuges*. Die Einwaage richtet sich nach dem Theobromingehalt bzw. nach dem Gehalt an fettfreier Kakaomasse des Untersuchungsmaterials. Sie beträgt bei:

Schokoladen, Kakao gezuckert	15,00 g
Kakaomasse	10,00 g
ungezuckertem Kakao	6,00 g

Die abgewogene Probe des Untersuchungsmaterials bringt man in einen 400 bis 500 ml Stehkolben, gibt 3 g Magnesiumoxid und einige Siedesteinchen zu, wägt den Kolben (Tarierwaage) und notiert das Gewicht. Bei fein pulverisiertem Material, wie Kakaopulver, setzt man 200 ml Wasser zu und erhitzt den Kolben unter öfterem Umschwenken zum Sieden. Bei Schokolade und Kakaomasse, die geraspelt oder in größeren Stücken vorliegt, ist es zweckmäßiger, zuerst nur wenig (30—50 ml) heißes Wasser zuzusetzen und den Kolben unter schwachem Erwärmen kräftig umzuschwenken, bis die Schokoladestücke vollständig zerfallen sind und sich eine homogene Suspension gebildet hat. Nun gibt man erst die restliche Wassermenge bis 200 ml zu und erhitzt zum Sieden. (Betr. Kakaokernbruch siehe Bemerkung 1). In den Kolbenhals setzt man einen Trichter (als Verschluß und Kühler) und hält während mindestens 10 Minuten unter öfterem Umschwenken

in schwachem Kochen. Man kühlt in fließendem Wasser auf ca 20 ° C ab, trocknet den Kolben außen gut ab und wägt wieder. Das verdampfte Wasser wird ersetzt, so daß der Kolben nun genau 200 g Wasser enthält. Man schüttelt kräftig und filtriert durch ein trockenes Faltenfilter von 15 cm Durchmesser. Bei Kakaomasse und gewissen Schokoladen mit Haselnuß- und Mandelmasse filtriert die Flüssigkeit schlecht. In diesem Fall wird das Unlösliche besser zuerst abzentrifugiert, die überstehende Lösung vorsichtig abgegossen und durch ein trockenes Faltenfilter filtriert. Das Filtrat ist meistens klar oder schwach opalisierend und hellgelb bis braun gefärbt. Es soll auf Phenolphtalein alkalisch reagieren.

Bemerkung 1 Kakaokernbruch oder zuwenig fein gewalzte Kakaomasse muß im Mörser mit Quarzsand zerrieben werden, um größere Zellverbände zu zerreißen. Die abgewogene Probe von 100 g wird im Mörser mit 20 g Quarzsand (genau gewogen) und 3,0 g Magnesiumoxid und wenig Wasser innig zerrieben, bis keine gröberen Kakaoteilchen mehr erkennbar sind. Nun spült man die Masse quantitativ in einen gewogenen Stehkolben und setzt soviel Wasser zu bis die Gesamtwassermenge 200 g beträgt. Das Totalgewicht des Kolbens berechnet sich aus der Summe: Gewicht des leeren Kolbens + 10,0 g Kakaomasse + 3,0 g Magnesiumoxid + 20,0 g Quarzsand + 200 g Wasser.

b) *Perforation des Theobromins.* Zur Perforation ist der Perforator nach *Pritzker* und *Jungkunz* (13) besonders gut geeignet. In das saubere und trockene Schliffkölbchen bringt man einige Siedesteinchen, wägt und verbindet Kölbchen und Perforator. Man gibt ca. 50 ml Chloroform in den Perforator, schließt den Hahn und läßt mittels Pipette 100 ml des nach 4 a erhaltenen Filtrates (entsprechend $^1/_2$ der Einwaage) auf die Chloroformschicht fließen. Jetzt wird der Hahn geöffnet und weiter so viel Chloroform zugegeben, bis das durch das untere Rohr abfließende Chloroform das Kölbchen bis knapp zur Hälfte füllt. Der Einhängekühler wird aufgesetzt und das Kölbchen auf ein Luftbad gestellt. Als besonders zweckmäßig erwies sich ein regulierbarer elektrischer Infrarotstrahler, wie er für den *Kjeldahl*-Aufschluß benutzt wird. Man bedeckt die Öffnung mit einer Asbestplatte, mit kreisrundem Ausschnitt, in welche das Schliffkölbchen paßt. Der Asbest schützt den oberen Teil des Kölbchens vor Überhitzung und verhindert, daß Theobromin in den Schliffteil des Perforators sublimiert. Als Luftbad kann man auch einen durchlöcherten Deckel einer Blechdose benützen und die Asbestplatte samt Kölbchen darauf stellen. Geheizt wird in diesem Fall mit einem Bunsenbrenner. Die Wärmezufuhr ist so zu regulieren, daß das Chloroform kräftig siedet und in sehr rascher Tropfenfolge, so daß die einzelnen Tropfen nicht mehr gezählt werden können, vom Kühler tropft.

Bemerkung 2 Bei Schokoladen mit gewissen Zusätzen (Gianduja) entstehen gelegentlich lästige Emulsionen von Chloroform und Wasser. In diesem Fall gibt man zu den abpipetierten 100 ml Filtrat im Perforator 0,5 ml Carrez-Lösung I, mischt mit einem Glasstab, gibt 0,5 ml Carrez-Lösung II zu, mischt wieder. Hierauf geht die Perforation ohne Emulsionsbildung.

Die Perforation dauert 10—12 Stunden. Dabei gelangen die Alkaloide Theobromin und Coffein quantitativ in die Chloroformschicht. Im Kölbchen bildet sich meistens eine weiße Schicht von auskristallisiertem Theobromin. Nach beendeter Perforation wird das Kölbchen abgenommen, das Chloroform auf einem Wasserbad abdestilliert und das Kölbchen mit dem Rückstand im Trockenschrank bei 103—105 ° C in liegender Stellung während 5—7 Minuten getrocknet und nach dem Erkalten gewogen. Der Rückstand ist meistens leicht gelblich gefärbt. Er enthält Theobromin, Coffein und gewisse Verunreinigungen.

c) *Trennung von Coffein und Theobromin.* Diese Trennung wird bei Schokoladeuntersuchungen normalerweise nicht ausgeführt. In diesem Fall wird der Rückstand im Kölbchen, bestehend aus Coffein und Theobromin direkt nach 4 d weiterverarbeitet.

Zur Trennung von Coffein und Theobromin gibt man in das Kölbchen mit dem Roh-Theobromin 10 ml Chloroform und verreibt den Rückstand mit einem Glasstab. Nun fügt man 50 ml reinen, wasserfreien Äther zu, mit dem man den Glasstab abspült. Die Mischung wird während $^1/_2$ Stunde am Rückfluß gekocht, abgekühlt und hierauf gut verkorkt während mindestens 1 Stunde im Kühlschrank stehen gelassen. Dann filtriert man unter schwachem Saugen durch ein Allihnsches Röhrchen (Asbestfilter, keine Glasfritte!) und fängt das klare Filtrat in einem gewogenen Kölbchen auf. Kölbchen und Filter werden mit 3—5 ml Äther nachgewaschen. Das Lösungsmittel wird abdestilliert, das Kölbchen bei 103—105 ° C getrocknet und gewogen. Der Rückstand besteht aus Roh-Coffein, das noch ca. 1 mg Theobromin enthält. Zur Bestimmung des Rein-Theobromins und Coffeins werden die Alkaloidrückstände mit 3—3,5 ml Schwefelsäure mineralisiert und der Stickstoffgehalt nach *Kjehldahl* bestimmt. Zum Abdampfrückstand des Coffeins gibt man 3 ml konz. Schwefelsäure und 1,5 g Katalysator und verfährt nach 4 d.

Den Theobrominrückstand auf dem Allihn-Röhrchen löst man in 1—1,5 ml konz. Schwefelsäure und 1 ml Wasser und saugt die Flüssigkeit in das Kölbchen mit dem Rest des Theobromins. Das Allihn-Röhrchen wird 4mal mit je 0,5 ml konz. Schwefelsäure und etwas Wasser nachgewaschen, so daß das Theobromin quantitativ in das Kölbchen übergeführt wird. Man setzt 1,5 g Katalysator zu und verfährt nach d 4.

d) *Kjehldahl*-Bestimmung. Wenn nur die Summe von Theobromin und Coffein bestimmt werden soll, nimmt man direkt den nach 4 b erhaltenen Perforationsrückstand in Arbeit. Andernfalls wird die Stickstoffbestimmung in den nach 4 c getrennten Alkaloiden ausgeführt.

Die Alkaloidrückstände werden mit 3—3,5 ml konz. Schwefelsäure versetzt und unter schwachem Erwärmen gelöst. Das Kölbchen ist derart zu drehen und zu neigen, daß die Glaswand überall mit Säure benetzt und das Alkaloid gelöst wird. Es besteht sonst die Gefahr, daß Verluste infolge Sublimation des Alkaloids entstehen. Nun gibt man 1,5 g Katalysatormischung und eine Glasperle zu, setzt einen passenden Trichter in die Öffnung des Kolbens, um Verluste durch

Spritzer oder Nebeltröpfchen zu vermeiden und erhitzt auf einem Infrarotstrahler oder mit einem Bunsenbrenner, bis die Lösung ganz schwach kocht. Man kann den Alkaloidrückstand auch in Schwefelsäure und Wasser lösen und mit kleinen Portionen Wasser und Schwefelsäure quantitativ in ein *Kjeldahl*-Kölbchen überführen und aufschließen. Nachdem die Aufschlußflüssigkeit klar und farblos erscheint, wird noch während 15—20 Minuten weiter erhitzt.

Zur Kontrolle der Reinheit der Reagenzien muß ein Blindversuch angesetzt werden. Man erhitzt 1,5 g Katalysator-Mischung und 3,5 ml konz. Schwefelsäure in gleicher Weise. Der Blindversuch verbraucht meistens weniger als 0,1 ml 0,1 n-Salzsäure.

Nach beendetem Aufschluß läßt man erkalten, verdünnt mit ca. 15 ml kaltem Wasser und führt die abgekühlte Aufschlußflüssigkeit quantitativ in eine geeignete Destillationsapparatur über, indem man den Kolben 3—4mal mit Wasser nachspült. Als Vorlage dient ein 100-ml Erlenmeyerkolben, der ca. 15 ml Borsäure-Indikatormischung enthält (siehe Bemerkung 3). Das Kühlerrohr der Destillationsapparaur soll in die Lösung eintauchen. Nun gibt man 10—15 ml Natronlauge-Thiosulfatlösung (2 d) zur Aufschlußlösung, schließt die Apparatur und beginnt mit der Wasserdampfdestillation. Vom Moment an, wo der 2stufige Mischindikator in der Vorlage von graubraun nach grün umschlägt, wird während 3 Minuten destilliert. Dann kann die Vorlage soweit gesenkt werden, bis das Kühlerrohr nicht mehr eintaucht. In dieser Stellung wird noch eine Minute weiter destilliert. Anschließend wird das Kühlerrohr außen abgespült und die Destillation abgebrochen. Das übergetriebene Ammoniak wird nun mit 0,1 n-Salzsäure titriert. Zuerst wird rasch bis zum Farbumschlag nach blau (1. Umschlagspunkt = Warnpunkt) und dann vorsichtig weiter titriert bis zum Farbumschlag nach grau braun (2. Umschlagspunkt = Endpunkt der Titration).

Bemerkung 3 Bei der Destillation des *Kjeldahl*-Aufschlusses kann man selbstverständlich auch eine abgemessene Menge 0,1 n-Salzsäure vorlegen und nachher mit 0,1 n-Natronlauge und einem geeigneten Mischindikator (Taschiro-Indikator) zurücktitrieren.

Berechnung

5. Die Alkaloide werden aus dem nach *Kjeldahl* bestimmten N-Gehalt berechnet. Es gelten folgende Faktoren:

1 ml 0,1 n-HCl = 4,50 mg Theobromin
= 4,85 mg Coffein

Bei der Berechnung des Rein-Coffein- und des Rein-Theobromingehaltes nach der Trennung auf Grund der verschiedenen Löslichkeit ist zu berücksichtigen, daß vom Äther stets geringe Mengen Theobromin (1—1,5 mg) gelöst werden und daher das isolierte Coffein mit 1 bis 1,5 mg Theobromin verunreinigt ist.

Bei der Rein-Coffeinbestimmung werden deshalb vom Titrationswert 0,25 ml 0,1 n-HCl (entspr. 1,1 mg Theobromin) subtrahiert. Bei der Rein-Theobrominbestimmung werden zum gefundenen Titrationswert 0,25 ml 0,1 n-HCl addiert,

um den Verlust infolge der Löslichkeit im Äther zu kompensieren. Für die Berechnung kann man folgende Formeln benützen:

Gesamtalkaloide ber. als Theobromin in % $= \frac{0{,}45 \cdot (H-B)\, f \cdot V}{v \cdot E}$

Rein-Theobromin in % $= \frac{0{,}45 \cdot (H-B+0{,}25) \cdot f \cdot V}{v \cdot E}$

Coffein in % $= \frac{0{,}485\, (H-B-0{,}25) \cdot f \cdot V}{v \cdot E}$

wobei

H = Verbrauch an 0,1 n-HCl im Hauptversuch für die Titration der Gesamtalkaloide bzw. für Coffein oder Rein-Theobromin;
B = Verbrauch an 0,1 n-HCl im Blindversuch mit den Reagenzien;
f = Faktor der 0,1 n-Salzsäure;
V = Volumen Wasser, das zur Lösung der Substanz verwendet wurde in ml (normalerweise 200 ml);
v = Volumen der Lösung, die perforiert wurde, in ml (normalerweise 100 ml);
E = Einwaage der Substanz in g.

(Betr. Korrektur für die Volumenvermehrung bei zuckerhaltigen Kakao- und Schokoladewaren siehe letzter Abschnitt).

Gehalt an fettfreier Kakaomasse

Aus dem Gesamtalkaloidgehalt läßt sich der Anteil an fettfreier Kakaomasse von Schokoladen und Kakaoerzeugnissen berechnen. Da fett- und wasserfreie Kakaomasse im Mittel 3,2 % Gesamtalkaloide (ber. als Theobromin) enthält, gilt folgende Formel:

fett- und wasserfreie Kakaomasse in % $= \frac{\text{Gesamtalkaloidgehalt}}{3{,}2} \cdot 100$

Berechnungsbeispiele

6. Von einer Kakaomasse (mit 42,1 % fett- und wasserfreier Kakaomasse) wurden 10,00 g abgewogen und nach Vorschrift aufgearbeitet. Von den 200 ml anfallenden wässerigen Lösung wurden nach dem Filtrieren 100 ml perforiert. Die *Kjeldahl*-Bestimmung der vorschriftsmäßig getrennten Alkaloide ergab (nach Abzug des Blindwertes für die Reagenzien):

Theobrominrückstand	=	14,30 ml 0,1 n-HCl
Coffeinrückstand	=	1,42 ml 0,1 n-HCl
Gesamtalkaloide (Summe)	=	15,72 ml 0,1 n-HCl

a) *Berechnung des Theobromingehaltes*

Kjeldahl-Bestimmung des Theobrominrückstandes	=	14,30 ml 0,1 n-HCl
Zuschlag für das in Lösung gegangene Theobromin	= +	0,25 ml 0,1 n-HCl
		14,55 ml 0,1 n-HCl

$$\text{Theobromin} = \frac{0{,}45 \cdot 14{,}55 \cdot 200}{100 \cdot 10} = 1{,}31\ \%$$

Die Kakaomasse enthielt 42,1 % fett- und wasserfreie Kakaomasse. Die Umrechnung ergibt:

$$\text{Theobromin in der fett- und wasserfreien Kakaomasse} = \frac{1{,}31}{0{,}421} = \mathbf{3{,}11}\ \%.$$

b) *Gesamtalkaloide*

Für die Berechnung der Gesamtalkaloide setzt man die Summe der beiden Titrationswerte in obige Formel ein (in unserem Beispiel 15,72 ml 0,1 n-HCl) und erhält:

Gesamtalkaloid ber. als Theobromin	=	1,41 %
in der fett- und wasserfreien Kakaomasse	=	**3,36** %

c) *Coffein-Bestimmung*

Kjeldahl-Bestimmung im Coffeinrückstand	=	1,42 ml 0,1 n-HCl
Abzug für die Verunreinigung mit Theobromin	=	—0,25 ml 0,1 n-HCl
Verbrauch für Rein-Coffein	=	1,17 ml 0,1 n-HCl

Die Umrechnung in Coffein (f = 4,85) ergibt:

$$\text{Coffein in } \% = \frac{0{,}485 \cdot 1{,}17 \cdot 200}{10 \cdot 100} = 0{,}113\ \%$$

in der fett- und wasserfreien Kakaomasse = **0,27** %

Korrektur für die Volumenvermehrung beim Lösen der Substanz

In obiger Rechnung, die für Kakaomasse richtig ist, wurde nicht berücksichtigt, daß beim Auflösen von Schokolade (15 g in 200 ml Wasser) eine Volumenvermehrung durch den Zucker erfolgt. Bei sehr genauen Analysen müßte am Resultat eine Korrektur angebracht werden. 1 g Zucker, gelöst in 200 ml Wasser verursacht eine Volumenzunahme von 0,615 ml.

Die Volumenvermehrung ΔV durch den Zucker in der Schokolade berechnet man nach folgender Formel

$$\Delta V = \frac{E \cdot Z \cdot 0{,}615}{100} \text{ wobei:}$$

ΔV = Volumenvermehrung
E = Einwaage an Schokolade in g
Z = Zuckergehalt der Schokolade in % (Lactose + Saccharose)

Das tatsächliche Volumen V der Flüssigkeit nach dem Auflösen der Schokolade beträgt

$$V = 200 + \Delta V$$

Beispiel

Eine Milchschokolade enthält 49,0 % Saccharose und 6,6 % Lactose (Gesamtzucker Z = 55,6 %).

Die Einwaage E für die Theobrominbestimmung betrug 15,0 g, die zugesetzte Wassermenge 200 ml. Das wirkliche Volumen der Flüssigkeit nach dem Lösen der Schokolade beträgt

$$V = 200 + \frac{E \cdot Z \cdot 0{,}615}{100} = 200 + \frac{15 \cdot 55{,}6 \cdot 0{,}615}{100} = 200 + 5{,}12 = 205{,}12 \text{ ml}$$

Das gefundene Resultat für Theobromin ist etwas zu niedrig, weil nur 100 ml Lösung, also etwas weniger als die Hälfte der wässerigen Lösung perforiert wurde. Das Resultat müßte mit dem Faktor f multipliziert werden.

$$f = \frac{200 + 5{,}12}{200} = 1{,}0256$$

Bei Kakaomasse fällt diese Korrektur weg (f = 1,000).

In der Praxis kann man diese Korrektur, die in der Regel ca. 2 % relativ ausmacht, vernachlässigen. Der «Theobromin»-Gehalt der Kakaomasse variiert naturgemäß innerhalb ziemlich weiter Grenzen. Die aus dem Theobromingehalt berechnete fettfreie Kakaomasse einer Schokolade von unbekannter Zusammensetzung ist daher mit einer ziemlich großen Unsicherheit (Vertrauensbereich $> \pm$ 10 % relativ) behaftet, so daß der Fehler, welcher durch die Volumenvermehrung durch den Zucker entsteht, nicht mehr ins Gewicht fällt.

Die Herren Dr. O. Schetty, Chemiker, Suchard Holding S. A., Neuchâtel-Serrières; Dr. J. Kleinert, Chemiker, Chocoladefabriken Lindt & Sprüngli AG., Kilchberg-Zürich und Ed. Junker, Afica S. A., La Tour de Peilz haben mir in freundlicher Weise Proben von Kakaobohnen, Kakaomasse und Schokolade samt den Angaben über Provenienz und Verarbeitung zur Verfügung gestellt, wofür ich ihnen zu Dank verpflichtet bin.

Meiner Mitarbeiterin, Fräulein Sonja Dillenius, möchte ich an dieser Stelle für die Ausführung der zahlreichen Analysen bestens danken.

Zusammenfassung

1. Die Theobrominbestimmungsmethode nach *Pritzker* und *Jungkunz* wurde eingehend überprüft und in einigen Punkten verbessert.
2. In verschiedenen Schokolade-Erzeugnissen bekannter Zusammensetzung ließ sich über die Theobrominbestimmung der Gehalt an fettfreier Kakaomasse recht zuverlässig ermitteln.
3. In 9 Proben von Kakaobohnen verschiedener Provenienzen und 11 Kakaomassen aus Betrieben wurden die Theobromin- und Coffeingehalte bestimmt. Zwischen den beiden Alkaloiden besteht eine lockere Korrelation. Relativ hohen Theobromingehalten entsprechen niedrige Coffeingehalte und umgekehrt. Die Summe der beiden Alkaloide schwankt innerhalb engeren Grenzen als die einzelnen Alkaloide.

4. Die Reproduzierbarkeit der Gesamtalkaloidbestimmung ist gut. Der mittlere Gesamtalkaloidgehalt für Kakaomasse beträgt 3,2 % bezogen auf fettfreie Trockenmasse. Die Standardabweichung, berechnet aus 64 Analysen an 25 Proben (im gleichen Labor) berechnet sich zu $s = \pm 0{,}043$.
5. Es werden statistische Berechnungen über die Vertrauenswürdigkeit (Streubereich) der gefundenen Werte angestellt.
6. Die genaue Arbeitsvorschrift zur Bestimmung von Theobromin, Coffein und dem Gesamtalkaloidgehalt in Kakaomasse, Kakaoerzeugnissen und Schokolade wird mitgeteilt.

Résumé

1. La méthode de *Pritzker* et de *Jungkunz* pour le dosage de la théobromine a été contrôlée de manière approfondie et quelques améliorations lui ont été apportées.
2. La teneur en pâte de cacao dégraissée a pu être calculée de manière satisfaisante à partir de la teneur en théobromine pour divers chocolats de composition connue.
3. La théobromine et la caféine ont été dosées dans 9 échantillons de fèves de cacao de diverses provenances et dans 11 pâtes de cacao provenant de diverses fabriques; il y a une certaine corrélation entre ces deux alcaloïdes. A des teneurs en théobromine relativement élevées correspondent de faibles teneurs en caféine et viceversa. La somme des deux alcaloïdes varie dans des limites plus étroites que celles dans lesquelles se meuvent les teneurs en alcaloïdes individuels.
4. La fidélité du dosage des alcaloïdes totaux est bonne. La valeur moyenne pour les alcaloïdes totaux de la pâte de cacao est de 3,2 %, rapportée à la substance sèche dégraissée. La déviation standard, calculée à partir de 64 analyses de 25 échantillons, dans le même laboratoire, est $s = \pm 0{,}043$.
5. On donne le mode opératoire pour le dosage de la théobromine, de la caféine et des alcaloïdes totaux dans la pâte de cacao, les produits à base de cacao et le chocolat.

Summary

The method of *Pritzker* and *Jungkunz* for the determination of theobromine has been thoroughly checked and somewhat improved. A procedure is described for the determination of theobromine, coffeine and total alcaloids in cacao paste, cacao products and chocolate. The average total alcaloids content of cacao paste ist 3,2 % (calculated on defatted dry matter).

Literatur

1. Methods of Analysis of the Association of official agricultural chemists (AOAC) 9th edition, 1960, (AOAC P. O. Box 540, Benjamin Franklin Station Washington 4 D. C.).
2. *Brunner:* Schweizerische Wochenschrift für Chemie und Pharmacie **36**, 301 (1898) Schweiz. Lebensmittelbuch, 3. Auflage.
3. *Hilger A.* und *Eminger A.:* Forschungsber. **1**, 292 (1894) zitiert nach Röttgers Nahrungsmittelchemie, Verlag Joh. Ambrosius, Leipzig, Bd. II 1804 (1926).
4. *Beckurts H.* und *Fromme J.:* Apotheker-Zeitung **18**, (1903); zitiert nach Röttgers.
5. *Wadsworth:* Analyst **46**, 153 (1922), zitiert nach *Jenser H. R.:* The Chemistry Flavouring and Manufacture of Chocolate Confectionery and Cacao, London (1931) S. 38.
6. *Fincke H.:* Z. U. L. **56**, 330 (1928) vgl. auch *Fincke H.:* «Handbuch der Kakaoerzeugnisse».
7. *Pritzker J.* und *Jungkunz R.:* diese Mitt. **34**, 185 (1943).
8. *Hadorn H.* und *Jungkunz R.:* diese Mitt. **41**, 155 (1950).

9. *Hadorn H.* und *Jungkunz R.:* diese Mitt. **40**, 416 (1949).
10. Schweiz. Lebensmittelbuch, 5. Auflage, Kapitel Diätetische Nährmittel (provisorisches Ringbuch) zu beziehen durch das Eidg. Gesundheitsamt, Bern.
11. *Winton A. L.* and *Winton K. B.:* «Structure and Composition of Foods» Vol. 4, 121, 123—124 (1939), Edition: Chapmann & Hall, Limited, London.
12. *Doerffel K.:* Beurteilung von Analysenverfahren und -Ergebnissen, Springer-Verlag, Berlin (1962). Erschienen in der Zeitschrift f. anal. Chemie **185**, 1—98 (1962).
13. Perforator nach *Pritzker* und *Jungkunz*, Abbildung eines verbesserten Modells, siehe diese Mitt. **42**, 232 (1951).

Untersuchungen an synthetischem Olivenöl

III. Mitteilung: Über die Geschwindigkeit der Peroxidbildung

Von *M. Staub* und *Fanny Hoffmann*
Aus dem kantonalen Laboratorium Zürich

In den früheren Mitteilungen (1) wurde auf den auffälligen Unterschied in der Geschwindigkeit der Peroxidbildung bei IR-Bestrahlung zwischen echten und synthetischen Olivenölen hingewiesen. Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit dem systematischen Studium der Peroxidbildungsgeschwindigkeit bei Bestrahlung mit IR-, UV- und sichtbarem Licht, wobei auch der Einfluß der Lichtintensität und der Temperatur berücksichtigt wird. Für die grundlegenden Versuche wurden nur selbst hergestellte echte und synthetische Olivenöle verwendet.

Versuchsteil

I. Herstellung der Versuchsöle

a) Echtes Olivenöl: 10 kg spanische Oliven werden mit den Kernen zerquetscht und in der Presse vom Öl befreit. Das Öl wird in der Zentrifuge abgetrennt und bei 50 ° durch ein Papier filtriert. Ausbeute 1,2 Liter. Verseifungszahl = 191,0.

b) Synthetisches Olivenöl*:
100 g Fettsäuren, hergestellt aus dem authentischen Olivenöl a);
10,8 g Glycerin;
0,6—0,8 g Zinkpulver rein.

NB. Bei jedem Ansatz sind 2 % Fettsäuren als Überschuß beizugeben.

---

* Die Darstellung des synthetischen Öls verdanken wir Frl. Dr. *R. Widmer*.