

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

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 40 (1949)

Heft: 5-6

Artikel: Zur Untersuchung und Beurteilung diätetischer Nährmittel

Autor: Hadorn, H. / Jungkunz, R.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-983814>

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: 27.01.2026

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

Zur Untersuchung und Beurteilung diätetischer Nährmittel

Von *H. Hadorn* und *R. Jungkunz*
(Laboratorium VSK, Basel)

Seit Jahren werden im Detailhandel zahlreiche diätetische Nährmittel und sog. Kraftnahrungsmittel angeboten, die aus Malzextrakt, Kakao, Milch, Eiern, verschiedenen Zuckerarten und Mineralsalzen hergestellt werden. Bei der Fabrikation werden die Rohmaterialien in der Regel unter Zusatz von etwas Wasser innig gemischt und die homogene dickflüssige Masse hierauf bei mässiger Temperatur im Vakuum getrocknet. Die fertigen Produkte stellen meistens schokoladebraune, lockere, granulierte oder poröse Massen dar. In den Anpreisungen wird stets auf die besonders hochwertigen Bestandteile und die Bekömmlichkeit dieser Nährmittel hingewiesen. Angaben über die Mengenverhältnisse der einzelnen Bestandteile werden jedoch nicht gemacht. Für die Beurteilung derartiger Präparate wäre es aber notwendig, wenigstens den Prozentgehalt an wertvolleren Bestandteilen, wie beispielsweise Eier, Vollmilch und Malzextrakt, zu kennen.

Die übliche Analyse nach den Vorschriften des LB¹), wobei etwa die löslichen Kohlehydrate, das Gesamtprotein, Fett und Mineralstoffe bestimmt werden, gibt nur einen sehr mangelhaften Einblick in die wirkliche Zusammensetzung dieser komplizierten Gemische. Aus dem nach *Kjeldahl* bestimmten Gesamtprotein lässt sich z.B. nicht abschätzen, ob Eier, Vollmilchpulver oder gar Magermilchpulver mitverarbeitet worden sind, da fast alle diese Rohmaterialien eiweißhaltig sind. Das gleiche gilt für die Auswertung des Fett- und Kohlehydratgehaltes.

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, einen Analysengang für diätetische Präparate, welche auf der Basis von Malzextrakt, Kakao, Zucker, Milch und Eiern aufgebaut sind, auszuarbeiten. Dabei hat es sich gezeigt, dass zahlreiche in der Literatur beschriebene Methoden, die zur Untersuchung anderer Lebensmittel gute Dienste leisten, gerade bei diesen Produkten versagen. So lässt sich z.B. die Lecithin-Phosphorsäure, die zur Berechnung des Eigeltes herangezogen werden soll, nicht wie in Eierteigwaren nach der bewährten Methode von *Arragon* bestimmen.

Mit ziemlichen Schwierigkeiten ist auch die Bestimmung der verschiedenen Zuckerarten verbunden. Neben Malzextrakt, der bereits Maltose, Dextrin, Glucose, Fructose und Saccharose enthält, sind noch Milchzucker, aus dem Milchpulver stammend, und eventuell andere Zuckerarten, wie Stärkezucker, Rohrzucker oder Invertzucker, vorhanden. Die Bestimmung aller Zuckerarten nebeneinander ist mit rein chemischen Methoden nicht möglich. Es müssten daher zur Bestimmung der Maltose und der Lactose spezielle Gärungsmethoden herangezogen werden.

Besondere Aufmerksamkeit erfordert auch die Fettbestimmung. Durch direkte Extraktion mit Äther oder Petroläther erhält man viel zu niedrige Werte, weil das Fett vom Malzextrakt und den verschiedenen Zuckerarten eingeschlossen ist. Man wird daher eine Aufschlussmethode anwenden müssen. Der Aufschluss muss aber möglichst schonend erfolgen, weil das gewonnene Gesamtfett zu weiteren Untersuchungen, wie Milchfett- und Cholesterinbestimmung, benötigt wird. Bei einem Aufschluss mit starker Säure, etwa nach *Berntrop*⁴⁴⁾ ist mit einer teilweisen Zersetzung des Cholesterins zu rechnen. Eine Modifikation der *Grossfeld'schen* Methode¹²⁾, wobei eine Fällung mit Kupfersulfat ausgeführt wird, hat sich schliesslich gut bewährt.

Die Menge des Vollmilchpulvers lässt sich aus dem Gehalt an Milchfett, diejenige des Magermilchpulvers aus dem Casein und Milchzucker berechnen. Zur direkten Bestimmung der Kakaomasse haben wir den Theobromingehalt derselben herangezogen. Der Gehalt an Vollei wurde, wie bereits angedeutet, einerseits aus der Lecithin-Phosphorsäure, andererseits aus dem Cholesteringehalt berechnet.

Eine wertvolle Methode zur Beurteilung von Malzextraktpräparaten stellt die Bestimmung der diastatischen Kraft dar. Bei unsorgfältiger Verarbeitung oder Überhitzung wird die Diastase inaktiviert. Die Methoden, wie sie in der Literatur für die Diastasebestimmung im Malzextrakt beschrieben werden, sind auf die genannten Präparate nicht anwendbar, weil die unlöslichen Kakao- und Milchbestandteile stören. Durch einige Modifikationen ist es uns gelungen, die diastatische Kraft in beliebig zusammengesetzten Nährmitteln zuverlässig zu bestimmen.

Im ersten Teil dieser Arbeit sollen die verschiedenen, neu ausgearbeiteten Methoden besprochen und durch Modellversuche belegt werden. Dann folgen vollständige Analysen zahlreicher Nährmittel des Handels. Die Zusammensetzung dieser Präparate wird besprochen. Es werden Vorschläge für Beurteilungsnormen und Anforderungen gemacht. Zum Schluss wird ein Analysengang mit den endgültig vorgeschlagenen Arbeitsvorschriften angegeben, die Auswertung der Resultate beschrieben und an Beispielen veranschaulicht.

Bestimmung der Saccharose

Die Bestimmung der Saccharose neben grossen Mengen anderer Zuckerarten, wie Maltose, Lactose, Glucose, Fructose und Dextrinen, die alle in diätetischen Präparaten enthalten sein können, bereitet einige Schwierigkeiten. Wir haben an Hand von Modellversuchen verschiedene Methoden überprüft.

a) Lebensmittelbuchmethode

Die von *Fellenberg'sche*¹⁾ Methode eignet sich gut zur Bestimmung grösserer Mengen Saccharose neben relativ wenig andern Zuckerarten. Sie wird aber un-

zuverlässig, wie von Fellenberg²⁾ selbst beobachtet hat, wenn wenig Saccharose neben viel direkt reduzierenden Zuckern bestimmt werden soll, wie dies bei guten Malzpräparaten in der Regel der Fall ist. Durch die Behandlung der Zuckerlösung mit ziemlich starker Natronlauge im Wasserbad sollen die direkt reduzierenden Zucker vollständig zerstört, Saccharose jedoch nicht angegriffen werden. Sie wird anschliessend mit Salzsäure invertiert und der Invertzucker bestimmt. Bei Anwesenheit grösserer Mengen Maltose reicht der vorgeschriebene Laugenzusatz nicht aus zur vollständigen Zerstörung der direkt reduzierenden Zuckerarten, weil die entstehenden sauren Zersetzungprodukte ziemlich viel Lauge binden. Man findet in diesem Fall einen zu hohen Saccharosegehalt, wie aus den Versuchen Nr. 1 und 2 in Tabelle 1 hervorgeht. Lactose, sowie Mischungen von Saccharose und Lactose verhalten sich ähnlich. Bei Erhöhung der

Tabelle 1

Substanz in 150 cm³ Wasser gelöst, mit NaOH versetzt und 5/4 Stunden im Wasserbad erhitzt, weiter nach Vorschrift des Lebensmittelbuches

Nr.	Versuch	NaOH	Maltose	Saccharose	Saccharose	
					berechnet	gefunden
<i>LB-Methode:</i>						
1	Maltose rein	1,2	1,5	—	0	7,4
2	Malzextrakt Gloma	1,2	—	—	5,07 ^{*)}	11,1
<i>NaOH-Zusatz erhöht:</i>						
3	Maltose rein	4	1,5	—	0	1,7
4	Maltose rein	4	3,0	—	0	3,5
5	Maltose + Saccharose	4	1,47	0,030	2,0	3,8
6	»	4	2,94	0,060	2,0	4,1
7	»	4	1,42	0,075	5,0	8,6
8	»	4	1,27	0,225	15,0	17,4
9	»	4	1,27	0,225	15,0	16,0
10	»	4	2,10	0,90	30,0	30,1
11	»	4	1,50	1,50	50,0	50,2
12	Saccharose allein	4	—	3,00	100,0	95,5
13	Malzextrakt Gloma	4	—	—	5,07 ^{*)}	7,2

^{*)} aus Fructosebestimmung nach Kruisheer

Bei geringen Saccharosegehalten unter 10 % sind die Resultate recht ungenau und meistens zu hoch. Aus den genannten Gründen haben wir diese Methode zur Bestimmung geringer Saccharosemengen wieder verlassen.

Laugenkonzentration werden in der Regel bessere Werte erhalten; es besteht aber dann die Gefahr, dass auch etwas Saccharose zerstört wird. Bei der Alkali-behandlung wird eine durch Zersetzungprodukte dunkelbraun gefärbte Lösung erhalten. Diese wird zunächst genau neutralisiert, durch eine Fällung mit Blei-essig geklärt und dann mit Na_2HPO_4 entbleitet. Nach *Thaler*³⁾ treten dabei Saccharoseverluste auf, vermutlich infolge Adsorption am Bleiphosphatniederschlag. Versuch Nr. 12 in Tabelle 1 mit einer reinen Saccharoselösung bestätigt diesen Befund. Unter bestimmten, empirisch festgestellten Versuchsbedingungen lassen sich die verschiedenen Fehler kompensieren, und man erhält annähernd richtige Resultate (Versuche 9—11).

b) Methode für Malzextrakt

Diese von der Lebensmittelbuch-Kommission zur Saccharosebestimmung in Malzextrakt empfohlene Methode beruht darauf, dass nach *Clerget*⁴⁾ durch kurze Inversion mit 3%iger Salzsäure bei 68—70° Saccharose quantitativ invertiert wird, während die andern Disaccharide nicht merklich angegriffen werden. Man bestimmt das Reduktionsvermögen vor und nach Inversion und berechnet die Saccharose aus der Differenz. Zur Inversion nach *Clerget* wird die Zuckerlösung mit so viel konz. Salzsäure versetzt, dass die HCl-Konzentration 3% beträgt; dann wird im Wasserbad von 70° während 10 Minuten invertiert. Die in Tabelle 2 aufgeführten Modellversuche zeigen, dass unter den angegebenen Versuchsbedingungen auch Maltose etwas gespalten wird. Der Saccharosewert wird daher immer etwas zu hoch ausfallen. Diese Differenzmethode ist besonders bei geringen Saccharosegehalten und bei Gegenwart von viel reduzierendem Zucker ungenau, weil die kleinen Unterschiede im Reduktionsvermögen vor und nach Inversion nahe an der Fehlgrenze der einzelnen Zuckerbestimmungen liegen. Diese Methode bietet keine Vorteile und wurde wieder aufgegeben.

Tabelle 2
Saccharosebestimmung mittels Inversion nach Clerget

Nr.	Zusammensetzung der Modell-Lösung		Gefunden in 10 cm ³ Modell-Lösung		Saccharose	
	Maltose-hydrat	Saccharose	vor Inversion ber. als Invertzucker	nach Inversion ber. als Invertzucker	gefunden	berechnet
	mg in 100 cm ³		mg	mg	%	%
1	700	0	41,02	43,04	2,7	0
2	700	35	41,02	45,36	5,6	4,76
3	550	100	32,46	44,50	17,6	15,40

c) *Methode Kolthoff-Kruisheer*

*Kruisheer*⁵⁾ hat eine von *Kolthoff*⁶⁾ ausgearbeitete Methode zur Fructosebestimmung herangezogen, um Saccharose in beliebigen Zuckermischungen quantitativ zu bestimmen. Durch Einwirkung von Jod im alkalischen Medium werden sämtliche Aldosen oxydiert. Fructose und Saccharose werden dabei nicht angegriffen. Nach erfolgter Oxydation wird die Lösung angesäuert, der Jodüberschuss mit Natriumsulfit entfernt und das Reduktionsvermögen, welches der Fructose entspricht, mit *Luff'scher* Lösung bestimmt. Wird vor der Jodbehandlung eine schwache Inversion durchgeführt, so kann auch das in der Saccharose enthaltene Fructosemolekül erfasst werden.

Aus der Differenz des Fructosegehaltes vor Inversion (Fr_1) und nach Inversion (Fr_2) lässt sich die Saccharose (S) berechnen. $S = 1,9 (Fr_2 - Fr_1)$. Die in der Tabelle 3 aufgeführten Modellversuche mit verschiedenen zusammengesetzten Zuckerlösungen haben ergeben, dass diese Methode die genauesten und zuverlässigsten Resultate liefert. Wir haben uns bei unseren Modellversuchen an die von *Kruisheer* angegebene und von *van Voorst*⁴³⁾ übernommene Vorschrift gehalten, die im Abschnitt Methodik genau beschrieben wird. Wir bestimmten aber das Reduktionsvermögen nicht wie vorgeschrieben nach *Luff-Schoorl*⁴¹⁾, sondern jodometrisch nach *Hadorn* und *von Fellenberg*⁴²⁾, weil diese Methode bei geringen Zuckergehaltenen genauer ist.

Tabelle 3
Saccharosebestimmung nach Kolthoff-Kruisheer

Nr.	Zusammensetzung der Modell-Lösung	Vor Inversion Fructose	Nach Inversion Fructose	Saccharose	
				gefunden	berechnet
	g in 100 cm ³	‰	‰	‰	‰
1	2,00 Saccharose	0,1	53,2	101	100
2	1,00 Maltosehydrat	0,13	0,09	-0,03	,0
	1,00 Lactosehydrat				
3	1,00 Maltosehydrat	0,20	2,87	5,07	4,77
	1,00 Lactosehydrat				
	0,10 Saccharose				
4	1,00 Maltosehydrat	0,86	6,12	10,0	10,0
	0,80 Lactosehydrat				
	0,20 Saccharose				
5	0,80 Maltosehydrat	1,10	11,54	19,8	20,0
	0,80 Lactosehydrat				
	0,40 Saccharose				

Andere Zuckerarten

Die quantitative Bestimmung der verschiedenen Zuckerarten, wie Maltose und Lactose, gelingt in komplizierten Nährmittelgemischen mit rein chemischen Methoden nicht. Es müssen spezielle Gärungsmethoden mit Heferassen, welche einzelne Zuckerarten selektiv vergären, herangezogen werden. Wir haben versucht, diese Methoden, die von holländischen Chemikern⁴³⁾ ausgearbeitet worden sind, zur Lactose- und Maltosebestimmung in Nährmitteln zu benützen. Die Resultate fielen aber schwankend und unbefriedigend aus, so dass sie nicht verwertbar waren. Auf die Bestimmung der Lactose kann übrigens verzichtet werden, da die fettfreie Milchtrockensubstanz ebensogut aus dem Casein berechnet werden kann.

Die Bestimmung der Maltose wäre besonders wertvoll, weil sich daraus der Malzextraktgehalt des Präparates berechnen liesse. Wir haben bei unseren Analysen den Malzextrakt stets aus der Differenz berechnet. Bei Präparaten, welche nur Malzextrakt, Kakao, Milchbestandteile, Rohrzucker und Eier enthalten, stimmen die aus der Differenz ermittelten Werte gut mit dem wirklichen Gehalt an Malzextrakt überein. Bei Präparaten dagegen, welche ausserdem Glucose oder Invertzucker enthalten, werden zu hohe Werte gefunden.

Bestimmung des Caseins

Zur Berechnung des Gehaltes an Milch- bzw. Magermilchpulver wurde die Caseinbestimmung herangezogen, da sich aus dem Caseingehalt die Menge an fettfreier Milchtrockensubstanz berechnen lässt.

*Laxa*⁷⁾ hat als erster die Bestimmung des Caseins in Milchschorle ver sucht. Eine brauchbare Methode zur Caseinbestimmung in Milchschorle stammt von *Baier* und *Neumann*⁸⁾. Sie ist von *Härtel* und *Jaeger*⁹⁾ überprüft und etwas modifiziert worden. Die Methode beruht auf dem Umstand, dass durch eine verdünnte Natriumoxalatlösung das Casein selektiv herausgelöst wird, während andere Eiweißstoffe, vor allem diejenigen der Kakaomasse im Rückstand bleiben. In einem aliquoten Teil des Filtrates wird durch Uranacetat und Essigsäure das Casein ausgefällt. Im Niederschlag bestimmt man den Stickstoff und berechnet daraus den Caseingehalt.

Nach der *Vorschrift von Härtel und Jaeger* werden 10 g fettfreie Substanz mit 200 cm³ 0,25 %iger Natriumoxalatlösung angerieben, zum Kochen erhitzt und dann 1/4 Stunde auf dem Wasserbade erwärmt. Nach 12stündigem Stehen wird die Flüssigkeit mit 0,25 %iger Natriumoxalatlösung auf 250 cm³ aufgefüllt und filtriert. 100 cm³ des Filtrates werden mit 5 cm³ 5 %iger Uranacetatlösung versetzt und tropfenweise mit 30%iger Essigsäure versetzt, bis sich das ausfallende Casein flockig zu Boden setzt und sich die überstehende Lösung klärt. Das Casein wird abfiltriert, gut ausgewaschen und im getrockneten Rückstand der Stickstoffgehalt nach *Kjeldahl* bestimmt.

Wir haben nach dieser Vorschrift in verschiedenen diätetischen Nährmitteln ganz unbefriedigende, viel zu hohe Werte gefunden. Wie aus Literaturangaben¹⁰⁾ hervorgeht, liegt der Grund darin, dass durch die heisse Natriumoxalatlösung neben Casein auch noch andere Eiweisstoffe, vor allem aus Ei- und Kakaomasse herrührend, gelöst und durch Uranacetat und Essigsäure wieder gefällt werden. *Härtel* und *Jaeger* geben zwar an, dass nach ihrer Methode durch 0,25 %ige Natriumoxalatlösung nur aus Kakaomasse, welche mit Alkalien aufgeschlossen worden war, Proteine extrahiert werden, welche anschliessend mit Uranacetat und Essigsäure fällbar seien. Bei nicht aufgeschlossener Kakaomasse, wie sie zur Herstellung von Milchschokolade dient, sei dies nicht der Fall.

Zur Herstellung der untersuchten diätetischen Nährmittel wird vermutlich aufgeschlossener Kakao verwendet.

Durch Modellversuche mit einem solubilisierten Kakao des Handels konnten wir zeigen, dass die von *Härtel* und *Jaeger* angegebene Methode für unsere Zwecke nicht brauchbar ist (Tabelle 4, Versuche Nr. 1 und 2). In einer Mischung, bestehend aus 50 % fettfreier Kakaomasse und 50 % Rohrzucker wurde ein scheinbarer «Casein»gehalt von 2,76 % gefunden. Durch die Natriumoxalatbehandlung sind beträchtliche Mengen Eiweisstoffe aus der Kakaomasse herausgelöst worden, die bei der anschliessenden Uranacetat-Essigsäurefällung als brauner, voluminöser Niederschlag gefällt wurden und bei der *Kjeldahl*-Bestimmung Casein vortäuschen. Auch in Versuch 2, bei welchem die gleiche Menge Kakaomasse mit 10 % Magermilchpulver versetzt worden war, fanden wir den Caseingehalt um ca. 2,5 % zu hoch. Die verwendete Kakaomasse täuscht demnach ca. 5,5 % Casein vor. Diese Methode wurde daher wieder verlassen.

Wir überprüften hierauf zwei von *Arragon*¹¹⁾ bekanntgegebene und von der Internationalen Schokoladen-Experten-Kommission vorgeschlagene Methoden. Die erste war eine offizielle französische Methode, nach welcher das Casein mit 1%iger Trinatriumphosphatlösung aus der entfetteten Schokolademasse herausgelöst wird. In einem aliquoten Teil des Filtrates wird das Casein mit Trichloressigsäure ausgefällt und gravimetrisch bestimmt. Auch nach dieser Methode wurden ganz unbefriedigende Resultate erhalten, weil aus der verwendeten Kakaomasse durch Trinatriumphosphatlösung beträchtliche Mengen stickstoffhaltiger Substanzen gelöst werden, die mit Trichloressigsäure wieder gefällt werden und Casein vortäuschen (Tabelle 4, Versuche 3 und 4).

Die zweite von der Internationalen Experten-Kommission vorgeschlagene Methode (loc. cit.) stammt von *Dehut* und *Janssen*. Sie ist eine Modifikation der Methode *Härtel* und *Jaeger*. Der wichtigste Unterschied besteht darin, dass die entfettete Kakaomasse mit *kalter* statt mit heisser Natriumoxalatlösung ausgezogen wird. Die Fällung des Caseins erfolgt in gleicher Weise mit Uranacetat und Essigsäure. Wir haben nach dieser letzteren Methode (Arbeitsvorschrift am Schluss dieser Arbeit) brauchbare Resultate erhalten. Die Versuche Nr. 5 bis 10 in Tabelle 4 zeigen, dass fettfreie Kakaomasse, auch aus aufgeschlossenem

Kakao, höchstens Spuren Casein vortäuscht. In Mischungen, bestehend aus Kakao, Rohrzucker und Magermilchpulver, wurden die berechneten Caseingehalte annähernd richtig gefunden. Die Methode versagt aber bei diätetischen Nährmitteln, welche beträchtliche Mengen Eipulver enthalten. Die Eierproteine werden durch die Natriumoxalatlösung ebenfalls herausgelöst und durch Uranacetat und Essigsäure in gleicher Weise wie Casein gefällt. Die Methode ist somit nicht spezifisch für Casein.

Wir fanden beispielsweise in einem Volleipulver nach der angegebenen Methode 5,0 % N oder berechnet als «Casein» = 31,9 %. Jedes Prozent Volleipulver täuscht in diätetischen Nährmitteln demnach 0,319 % Casein vor. In unseren Modellversuchen mit selbst hergestellten Nährmitteln kommen diese Verhältnisse deutlich zum Ausdruck. In der Modellmischung II mit 17,5 % Magermilchpulver, ohne Eipulver, wurden richtig 5,73 % Casein gefunden (ber. 5,70 %).

In der Modellmischung I mit der gleichen Menge fettfreier Milchtrocken-Substanz (17,5 %) und mit Zusatz von 5 % Volleipulver wurden 7,47 % Casein gefunden. Der Fehler beträgt +1,74 %.

Wird am gefundenen Roh-Casein eine Korrektur für das Eipulver ange-

Tabelle 4
Modellversuche zur Caseinbestimmung auf Grund verschiedener Methoden

Methode und Versuch	Fettfreie Kakao-masse	Rohrzucker	Magermilch-pulver	Casein berechnet	Casein gefunden
<i>Methode Härtel und Jaeger</i>	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Versuch 1	50,0	50,0	0	0	2,76
Versuch 2	50,0	40,0	10,0	3,27	5,76
<i>Französische Methode</i>					
Versuch 3	50,0	50,0	0	0	4,02
Versuch 4	50,0	40,0	10,0	3,27	7,52
<i>Methode Dehut und Janssen</i>					
Versuch 5	50,0	50,0	0	0	Spur
Versuch 6	50,0	40,0	10,0	3,27	3,81
Versuch 7	10,0	75,0	15,0	4,90	4,84
Versuch 8	10,0	85,0	5,0	1,63	1,70
Versuch 9	13,9 *)	86,1	0	0	0,12
Versuch 10	13,9 *)	56,1	30,0	9,82	11,25

*) Bei Versuchen 9 und 10 stammte die fettfreie Kakaomasse aus einer Blockschokolade des Handels.

bracht, so erhält man gut brauchbare Resultate. Aus dem so gefundenen Rein-Casein lässt sich der Gehalt an fettfreier Milchtrockensubstanz berechnen.

*Berechnung der fettfreien Milchtrockensubstanz
aus dem ermittelten Caseingehalt*

Härtel und *Jaeger* (loc. cit.) finden in zwei verschiedenen Milchpulvern Caseingehalte, auf fettfreie Milchtrockensubstanz berechnet, die zwischen 28,7 und 32,0 % schwanken. Nach ihren Angaben enthält Vollmilchpulver mit 25 % Fett im Mittel 20—22 % Casein. Die fettfreie Milchtrockensubstanz somit 26,7 bis 29,3 % Casein.

Eigene Analysen eines Voll- und eines Magermilchpulvers ergaben eher etwas höhere Werte (Tabelle 5). Berechnet auf fettfreie Milchtrockensubstanz, fanden wir 29,8—32,7 % Casein. Da bei der Analyse von Nährmitteln der Caseingehalt eher zu hoch gefunden wird, haben wir der Berechnung der fettfreien Milchtrockensubstanz ebenfalls einen etwas hohen Caseingehalt, nämlich 32,5 % zu Grunde gelegt. Auf diese Weise erhält man in der Regel gut brauchbare Werte. Bei Präparaten mit beträchtlichem Ei gehalt muss noch eine Korrektur angebracht werden. Die Menge an Eitrockensubstanz lässt sich aus dem Cholesterin- und Lecithin-P₂O₅-Gehalt berechnen. Für jedes Prozent Volleipulver sind vom gefundenen Roh-Casein 0,32 % oder rund 1 % von der fettfreien Milchtrockensubstanz zu subtrahieren.

Tabelle 5
Analysen von Mager- und Vollmilchpulver

	Magermilchpulver	Vollmilchpulver
Gesamtstickstoff nach <i>Kjeldahl</i>	5,55 % N	4,03 % N
Gesamtstickstoff berechnet als Casein (6,4 . N)	35,5 %	25,8 %
Casein bestimmt nach <i>Dehut</i> und <i>Janssen</i>	32,7 %	22,4 %
Casein in fettfreier Milchtrockensubstanz	32,7 %	29,8 %
Casein in % des Gesamtproteins	92,2 %	86,9 %
Fettgehalt	0,06 %	24,80 %
Cholesterin im Milchpulver	—	76,5 mg ^{0/0}
Cholesteringehalt des Milhfettes	—	308 mg ^{0/0}
Milchzucker	—	—
Phosphatid-P ₂ O ₅	17 mg ^{0/0}	20 mg ^{0/0}
Asche	7,21 %	7,50 %
CaO	1,85 %	1,75 %
P ₂ O ₅	2,16 %	2,20 %

Bestimmung des Gesamtfettes

Die Bestimmung des Gesamtfettes in «Diätetischen Nährmitteln» spielt zur Beurteilung derselben deswegen eine so wichtige Rolle, weil im Gesamtfett einerseits das Milchfett und andererseits das Cholesterin ermittelt werden muss. Dieser Umstand macht es erforderlich, dass das Gesamtfett nicht durch irgendwelche Einflüsse bei der Isolierung verändert wird.

Nach dem Lebensmittelbuch ⁴⁴⁾, Kapitel Diätetische Nährmittel, wird für die Bestimmung des Fettgehaltes auf die diesbezügliche Bestimmung im Abschnitt Brot verwiesen, woselbst diese Bestimmung nach *Berntrop* auszuführen ist. Nun eignet sich aber diese Bestimmungsart des Gesamtfettes für unsere Zwecke nicht, und zwar aus folgenden Gründen:

- a) Abnahme der Sterine. *Grossfeld* ¹²⁾ teilt hierüber folgendes mit:
«Während die Ausbeute an Ätherextrakt durch den Aufschluss nur un-
wesentlich verändert wird, finden wir in allen Versuchen durch die Behand-
lung mit Salzsäure eine deutliche Verringerung der Ausbeute an Unverseif-
barem. Dabei scheint der Gehalt an Kohlenwasserstoffen beim Eieröl etwas
anzusteigen, beim Mehl aber abzunehmen. Der Gehalt des Ätherextraktes
an Sterinen hat in allen Fällen deutlich abgenommen.»
- b) Hydrolyseierung der Lecithine und Abspaltung der Fettsäurekomponente,
worauf bereits *Grossfeld* ¹³⁾ hingewiesen hat.
- c) Starke Verfärbung des Gesamtfettes bei Anwesenheit von Kakao, wodurch
die kolorimetrische Bestimmung des Cholesterins erschwert wird.
- d) Verkohlung des Papiers durch Säurereste beim Trocknen.

Die direkte Extraktion des Fettes aus den gemahlenen Nährmitteln mit Äther, Benzol-Alkohol und auch andern Lösungsmitteln versagt, weil der ver-
hältnismässig grosse Gehalt an Zuckerarten die Fett-Teilchen derart einschliesst,
dass sich diese nicht quantitativ extrahieren lassen. Es musste daher eine Methode
gesucht werden, um in erster Linie den Zucker zu entfernen, ohne dabei Fett zu
verlieren.

In einer sehr ausführlichen Arbeit: «Eine kolloidchemische Betrachtung der Fettbestimmungsverfahren für Milch» hat *Grossfeld* (loc. cit.) alle diese Schwie-
rigkeiten beleuchtet und untersucht, wie ihnen begegnet werden kann. Dazu erwähnt er wörtlich:

«Am einfachsten ist der Zusatz eines Schwermetallsalzes zu der mit Wasser
verdünnten Milch. Bei den vorliegenden Versuchen hat sich besonders
Kupfersulfat in Form der *Fehling*'schen Kupfersulfatlösung bewährt usw.»

Nach dieser Methode gelingt es, aus grösseren Mengen Ausgangsmaterial die Hauptmenge des Zuckers zu entfernen und im getrockneten Niederschlag das Fett quantitativ zu extrahieren.

Da *Grossfeld* in gewissen Fällen geringe Mengen Lauge zur Fällung empfiehlt, wurden einige Vorversuche angestellt, wobei festgestellt wurde, dass die Fällung mit *Fehling*'scher Kupfersulfatlösung ohne Laugenzusatz sehr gut gelingt und die Filtration bedeutend besser verläuft. Auf Grund weiterer Beobachtungen ergab sich schliesslich die am Schluss dieser Arbeit angegebene Methodik.

Bestimmung des Milchfettes

a) Mit Hilfe der Halbmikro-Buttersäurezahl

Da in der Regel die diätetischen Nährmittel unter 10 % Gesamtfett enthalten, ist es ziemlich umständlich, die für die Makro-Kennzahlen nötigen Fettmengen zu gewinnen, besonders wenn aus Zuverlässigkeitsgründen noch Doppelbestimmungen ausgeführt werden müssen. Schon im Jahre 1922 machte *H. Lührig*¹⁴⁾ daher darauf aufmerksam, dass die RMZ statt wie üblich mit 5 g auch schon mit 0,5 g unter entsprechender Verkleinerung der Reagenzmengen bestimmt werden kann. Später hat sich dann *J. Grossfeld*¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾ eingehend in einer Reihe von Arbeiten mit diesem Problem beschäftigt und uns mit seinen Halbmikroverfahren ausgezeichnete Methoden bei kleinen Mengen Ausgangsmaterial verschafft. Für die Bestimmung des Milchfettes im vorliegenden Falle haben wir in erster Linie die *Halbmikro-Buttersäurezahl* benutzt, daneben aber auch die Methode von *Th. von Fellenberg*¹⁹⁾ zu Kontrollbestimmungen beigezogen. *Grossfeld* ging so vor, dass er die Fettmenge und die Reagenzmengen auf 1/10 verkleinerte und auch nur 11 cm³ Destillat auffing. Bezuglich der Apparatur führt *Grossfeld*¹⁵⁾ wörtlich aus: «Dass die Grösse der Destillationsvorrichtung auf die Zusammensetzung des Destillates keinen praktischen Einfluss hat, ist einerseits an sich erfreulich, weil damit *besondere Vorschriften für jene Vorrichtung fortfallen* ...»

Für unsere Bestimmungen wählten wir die Apparatur nach *Zäch*²⁰⁾ mit entsprechenden Vorlagen und Destillationsaufsätzen gemäss den Angaben *Grossfelds*²¹⁾. Was die Zuverlässigkeit der erwähnten Methode anbetrifft, so wurde von uns festgestellt, dass sie recht brauchbare Ergebnisse liefert. Bezuglich des Einflusses von Cocosfett erwähnt *Grossfeld* (a.a.O.) folgendes:

«Nach unseren Versuchen bewirkt Cocosfett bei der Milchfettbestimmung in Fettgemischen auf Grund der Buttersäurezahl eine Störung, deren Grösse aber fast vernachlässigbar ist. Sie beträgt bei 100 % Cocosfett, also im Höchstfalle, etwa 0,9 an Buttersäurezahl und ist dem Gehalt an Cocosfett ungefähr proportional. Bei Cocosfettgehalten unter 30 % liegt die Störung also bereits innerhalb der mittleren Fehlergrenze von $\pm 0,25$. Um die Störung ganz auszuschalten, kann man, wie früher gezeigt, die Verseifungszahl zu Hilfe nehmen.»

Bei allen von uns untersuchten Präparaten konnte kein Cocosfett nachgewiesen werden, und es ist auch kaum wahrscheinlich, dass dieses zu solchen Zwecken verarbeitet wird. Aus diesem Grunde wird die Halbmikro-Buttersäurezahl zur Bestimmung des Milchfettes im Gesamtfett immer gute Dienste leisten.

b) Mit Hilfe der Halbmikromethode nach von Fellenberg

*Von Fellenberg*¹⁹⁾ hat ebenfalls eine Halbmikromethode zur Milchfettbestimmung in beliebigen Fettmischungen ausgearbeitet, deren Prinzip folgendes ist.

1 g Fett wird mit Kalilauge und einem Zusatz von Glykol verseift. Die Seife wird mit Wasser verdünnt, mit Cocosseifenlösung und dann mit Schwefelsäure versetzt, die Masse kräftig geschüttelt und filtriert. Ein aliquoter Teil des Filtrates mit den wasserlöslichen Fettsäuren wird fraktioniert destilliert. In zwei Fraktionen von 2 cm³ und 6 cm³ werden die übergangenen Fettsäuren mit 0,01n-Lauge titriert. Der Milchfettgehalt ist dem Verbrauch an Lauge proportional. Aus dem Verhältnis der beiden Titrationswerte kann bei Anwesenheit störender Mengen von Cocosfett eine Korrektur für den Milchfettgehalt berechnet werden.

Die Übereinstimmung der gefundenen Milchfettgehalte aus der Halbmikro-Buttersäurezahl einerseits und nach der Methode von Fellenberg andererseits war durchwegs befriedigend.

Bestimmung des Cholesterins

Wie bereits erwähnt, soll die Bestimmung des Cholesterins herangezogen werden, um den Ei gehalt zu berechnen.

Wir bestimmten das Cholesterin nach einer von *Riffart und Keller*²²⁾ ausgearbeiteten und sorgfältig überprüften kolorimetrischen Methode. Sie beruht auf der von Liebermann und Mitarbeitern zuerst mitgeteilten Farbreaktion des Cholesterins mit Essigsäureanhydrid und konz. Schwefelsäure. *Riffart und Keller* verwenden als Lösungsmittel für Cholesterin bzw. die cholesterinhaltige Fettmischung Essigester, weil sich darin, im Gegensatz zu Chloroform, auch die konzentrierte Schwefelsäure gut löst.

Die Farbstärke der *Liebermann'schen* Reaktion ist von verschiedenen äußeren Bedingungen, wie der Menge konz. Schwefelsäure, der Temperatur, Belichtung und Zeit abhängig. Die Methode von *Riffart und Keller* gibt bei Einhaltung der Arbeitsvorschrift genaue und gut reproduzierbare Werte. *Riffart und Keller* haben ihre Messungen mittels des Pulfrich-Photometers durchgeführt. Wir haben zu diesem Zweck ein lichtelektrisches Kolorimeter verwendet und die Cholesteringehalte aus einer unter gleichen Bedingungen aufgestellten Eichkurve entnommen.

Zur Bestimmung des Cholesterins wird das mit Petroläther gereinigte Gesamtfett benutzt.

Da bekanntlich Cholesterin in Petroläther nur wenig löslich ist, hatten wir zunächst gewisse Bedenken, ob das Cholesterin auf diese Weise quantitativ ins Reinfett gelange. Zur Kontrolle wurde der auszentrifugierte und mit Petroläther gewaschene Rückstand mit den Verunreinigungen des Fettes mit Essigester aufgenommen, auszentrifugiert und die Lösung auf Cholesterin geprüft. Obschon das verwendete Rohfett viel Cholesterin enthielt, konnte im Rückstand kein Cholesterin nachgewiesen werden. Demnach gelangt dieses quantitativ in die Petrolätherlösung.

Berechnung des Ei gehaltes aus dem Cholesteringehalt

Zur Berechnung der Eitrockensubstanz aus dem ermittelten Cholesteringehalt benötigen wir zunächst den Cholesteringehalt von Trockenvollei. Wir haben in Eipulvern des Handels nach den am Schluss mitgeteilten Methoden zunächst das Fett isoliert und im Reinfett das Cholesterin bestimmt. Dabei wurden folgende Werte (Tabelle 6) gefunden:

Tabelle 6

Präparat	Wasser-gehalt	Fettgehalt	Cholesterin	Cholesterin ber. auf Trocken-substanz
1 Volleipulver aus USA	0/0	0/0	0/0	0/0
2 Volleipulver aus USA	4,0	36,5	2,20	2,29
3 Volleipulver aus USA	5,0	37,0	1,94	2,04
	6,5	37,9	1,99	2,13

Literaturangaben über den Cholesteringehalt von Volleipulver haben wir nicht gefunden. Diese Werte lassen sich aber aus andern Angaben berechnen. Es ist bekannt, dass fast das gesamte Cholesterin im Eigelb und nur Spuren im Eiklar enthalten sind. *Tillmans, Riffart und Kühn*²³⁾ haben den Cholesteringehalt im Eigelb verschiedener Eier bestimmt. Berechnet auf je 16 g Eigelb (entspr. einem mittleren Eigelb) fanden sie Werte, die zwischen 203 und 283 mg Cholesterin schwankten.

Nach Angaben des Lebensmittelbuches (Seite 144) entfallen vom Ei-Inhalt

66 % auf das Eiklar und
34 % auf das Eigelb.

Die Trockensubstanz des Ei-Inhaltes beträgt 26,3 %. Einem Eigelb von durchschnittlich 16 g Frischgewicht entsprechen demnach 12,38 g Trockenei. Aus den von *Tillman, Riffart und Kühn* angegebenen Cholesteringehalten von Eigelb ergeben sich somit:

	In 16 g frischem Eigelb	In Trockenvollei (berechnet)
Minimum	203 mg Cholesterin	1,64 % Cholesterin
Maximum	283 mg Cholesterin	2,29 % Cholesterin
Mittelwert	239 mg Cholesterin	1,93 % Cholesterin

Die von uns gefundenen Werte in Tabelle 6 stimmen gut mit diesen Literaturangaben überein.

Zur Berechnung des Eigeltes der untersuchten Nährmittel haben wir den bei eigenen Versuchen gefundenen Mittelwert von 2,1 g Cholesterin in 100 g Trockenvollei benutzt. Vor der Umrechnung auf Vollei muss aber am gefundenen Cholesteringehalt des Nährmittels noch eine Korrektur angebracht werden, weil auch Milchfett und Kakaofett etwas Sterine enthalten.

Der Cholesteringehalt des Milchfettes beträgt
nach *König*²⁴⁾ = 0,28—0,51 %

Im extrahierten Fett aus Vollmilchpulver fanden wir
Cholesterin (Tabelle 5) = 0,308 %

Der Phytosteringehalt des Kakaofettes beträgt
nach *Handbuch*²⁵⁾ = 0,33—0,58 %

nach *Grün*²⁶⁾ = 0,2 %

Im extrahierten Kakaofett fanden wir Phytosterin = 0,41 %

Berechnung des Cholesterins in Modellmischungen

Bei der Überprüfung der Methode an selbst hergestellten Modellmischungen (siehe Tabelle 7) wurden annähernd die Cholesteringehalte gefunden, wie sie sich aus den einzelnen Komponenten berechnen lassen.

Tabelle 7

	Sterin- gehalt %	Modellmischung I		Modellmischung II	
		enthält in %	Sterin- anteil	enthält in %	Sterin- anteil
Kakao	0,095	15	14,2	15	14,2
Magermilchpulver	0	10	—	17,5	—
Vollmilchpulver	0,077	10	7,7	0	—
Malzextrakt	0	60	—	42,5	—
Volleipulver	2,20	5	110,0	0	—
Rohrzucker	0	0	—	25	—
Cholesterin berechnet mg%			131,9		14,2
Cholesterin gefunden mg%			130		20

Tabelle 8

Berechnung des Eigelthaltes aus

Zur Berechnung der Korrekturen für die Kakao- und

*Lecithin-P₂O₅-Gehalt*von fettfreier Kakaomasse = 74 mg^{0/0}von Milchpulver = 20 mg^{0/0}

Präparat Nr.	1	2	3	4
Fettfreie Kakaomasse %	10,6	12,2	9,4	11,2
Kakaofett %	3,1	4,3	2,9	3,8
Milchfett %	3,2	1,7	1,9	1,9
Voll- und Magermilchpulver %	19,4	15,5	12,5	16,0
 <i>Lecithin-P₂O₅</i> %	53,6	28,6	17,5	23,0
Korrektur für fettfreie Kakaomasse mg ^{0/0}	7,8	9,0	7,0	8,3
Korrektur für Milchpulver	3,9	3,1	2,5	3,2
Korrektur total	11,7	12,1	9,5	11,5
Lecithin-P ₂ O ₅ korrigiert	41,9	16,5	8,0	11,5
Trockenvollei % = $\frac{\text{Lecithin-P}_2\text{O}_5 \text{ korr.}}{12}$	3,64	1,44	0,70	1,00
 <i>Cholesterin</i> mg ^{0/0}	97	45	32	45
Korrektur für Kakaofett mg ^{0/0}	12,4	17,2	11,6	15,2
Korrektur für Milchfett	9,6	5,1	5,7	5,7
Korrektur total	22,0	22,3	17,3	20,9
Cholesterin korrigiert	75,0	22,7	14,7	24,1
Trockenvollei % = $\frac{\text{Cholesterin korr.}}{21}$	3,57	1,08	0,70	1,14

Lecithin- P_2O_5 und Cholesterin

Milchbestandteile wurden nachstehende Mittelwerte benutzt:

Sterinengehalt

von Kakaofett = 400 mg^{0/0}

von Milchfett = 300 mg^{0/0}

5	6	7	8	9	10	11	12	Modell-mischung I	Modell-mischung II
8,9	8,0	8,0	8,1	6,1	11,6	30,6	0	11,2	10,9
2,3	2,1	1,5	6,4	1,4	3,3	8,4	0	3,2	3,4
0,1	0,9	2,3	1,5	5,7	2,0	0,3	0	2,67	0
9,8	16,0	11,5	28,9	34,1	11,5	6,1	0	21,0	17,6
7,7	32,9	60,0	21,2	21,6	18,2	52,1	24,7	65,2	8,1
6,6	5,9	5,9	6,0	4,5	8,6	22,6	0	8,3	8,1
2,0	3,2	2,3	5,8	7,8	2,3	1,2	0	4,2	3,5
8,6	9,1	8,2	11,8	12,3	10,9	23,8	0	12,5	11,6
-0,9	23,8	51,8	9,4	9,3	7,3	28,3	24,7	52,7	-3,5
0	2,07	4,50	0,82	0,81	0,64	2,46	2,15	4,4	0
15	62	103	49	49	42	57	81	130,0	20,0
9,2	8,4	6,0	25,6	5,6	13,2	33,6	2,4	12,8	13,6
0,3	2,7	6,9	4,5	17,1	6,0	0,9	0,6	8,0	0
9,5	11,1	12,9	31,1	22,7	19,2	34,5	3,0	20,8	13,6
5,5	50,9	90,1	17,9	26,3	22,8	22,5	78,0	109,2	6,4
0,26	2,42	4,33	0,85	1,25	1,09	1,07	3,71	5,2	0,3

Zur Berechnung der Eitrockensubstanz in Nährmitteln haben wir vom gefundenen Cholesteringehalt des Präparates (in mg^{0/0}) für jedes Prozent Kakaofett 4 mg^{0/0} und für jedes Prozent Milchfett 3 mg^{0/0} subtrahiert. Die Differenz entspricht dem Cholesterin, welches aus dem Ei stammt. Da Trockenvollei im Mittel 2,1 % Cholesterin enthält, so ergibt sich:

$$\% \text{ Trockenvollei} = \frac{\text{Cholesteringehalt korrig. in mg}^0/0}{21}$$

In der Tabelle 8 sind diese Berechnungen für alle untersuchten Präparate zusammengestellt und bedürfen keines weiteren Kommentars.

Bestimmung der Lecithin-Phosphorsäure

Die Bestimmung der Lecithin-Phosphorsäure wird dazu benutzt, um den Ei-gehalt in Lebensmitteln zu berechnen, da Eidotter besonders reich an Lecithin ist.

Wir versuchten zunächst, den Lecithingehalt in den verschiedenen diätetischen Nährmitteln nach der Methode von *Arragon*²⁷), wie sie im Lebensmittelbuch (S. 131) zur Lecithinbestimmung in Eierteigwaren angegeben wird, zu ermitteln. Dabei wird das fein pulverisierte Material mit heissem absolutem Alkohol ausgezogen. Die Methode ist jedoch für unsere Zwecke nicht brauchbar, weil die meisten der untersuchten Produkte viel Zucker und Malzextrakt enthalten. Diese bilden mit heissem absolutem Alkohol schon nach kurzer Zeit harte Klumppen, und ein vollständiges Herauslösen des Lecithins ist nicht möglich. Die Resultate fielen denn auch bei allen Versuchen viel zu niedrig aus, wie aus der Tabelle 9 hervorgeht.

Tabelle 9
Lecithin-P₂O₅-Bestimmung nach verschiedenen Methoden

Präparat Nr.	Gehalt an Trockenei	LB-Methode wie in Teigwaren	Neue Methode	Lecithin-Ausbeute nach LB-Methode
1	1,0	mg 0/0	mg 0/0	0/0
2	0,7	8,6	22,5	38
3	1,2	5,3	17,5	33
4	3,6	13,5	28,6	47
5	0,2	14,3	53,6	27
		3,1	7,7	40

Nach der LB-Methode werden nur 30—40 % des vorhandenen Lecithins erfasst.

Bevor das Lecithin mit Alkohol gelöst werden kann, muss unbedingt die Hauptmenge der verschiedenen Zuckerarten entfernt werden.

Nach einigen Vorversuchen führte schliesslich folgende Arbeitsweise zum Ziel: Die Substanz wurde zunächst in 50° warmem Wasser gelöst, die Lösung

abgekühlt und in analoger Weise wie bei der Fettbestimmung mit Kupfersulfat versetzt. Der Niederschlag, welcher unlösliche Kakaomasse, Eiweisstoffe, Fett, Lecithin und Phosphatide enthält, wurde abfiltriert, gut ausgewaschen und an der Luft getrocknet. Auf diese Weise werden Zucker sowie lösliche Salze entfernt. Der Niederschlag wurde nun erschöpfend mit heissem absolutem Alkohol im Extraktionsapparat extrahiert, der alkoholische Extrakt verascht und darin die Phosphorsäure gravimetrisch oder kolorimetrisch bestimmt. Diese Methode hat auch den Vorteil, dass lösliche anorganische Phosphate, welche leicht Lecithin vortäuschen können, bei der Behandlung mit Wasser entfernt werden. Ausserdem wird durch den Aufschluss mit Wasser das gesamte Lecithin des Präparates in eine alkohollösliche Form gebracht. Wie *Alberti*²⁸⁾ gezeigt hat, ist besonders in ältern Mustern von Eierteigwaren ein Teil des Lecithins fest gebunden oder adsorbiert und wird erst durch einen «Aufschluss» mit Wasser wieder gespalten und quantitativ in Alkohol löslich.

Die quantitative Extraktion der Phosphatide mittels heissem Alkohol erfordert ziemlich viel Zeit. Vermutlich wird ein Teil der Lecithin- und Phosphatid-Phosphorsäure, welcher an Eiweiss gebunden ist, wie beispielsweise im Vitellin, durch den Alkohol erst allmählich abgespalten. Nach 8stündigem Extrahieren der lockeren Masse mit heissem Alkohol im Extraktionsapparat nach *Pritzker* und *Jungkunz*⁴⁶⁾ ist die organisch gebundene Phosphorsäure praktisch quantitativ im alkoholischen Auszug, wie nachstehende Versuche mit selbst hergestellten Nährmittelmischungen zeigen.

	Modellmischung I mit 5% Volleipulver mg% Lecithin P ₂ O ₅	Modellmischung II ohne Eipulver mg% Lecithin P ₂ O ₅
8 Stunden extrahiert	65,2	8,1
Noch weitere 3 Stunden extrahiert	0,7	0
Total:	65,9	8,1
Berechnet aus den Einzelbestandteilen	69,2	11,4

Die Bestimmung der Phosphorsäure nach der kolorimetrischen und nach der gravimetrischen Methode führte durchwegs zu gut übereinstimmenden Resultaten, wie nachstehende Zahlen (in mg% P₂O₅) zeigen:

Präparat	1	2	3	4	5	6	29	Eipulver
kolorimetrisch	23,0	18,1	28,4	54,0	7,8	17,4	52,5 mg%	1,12 %
gravimetrisch	22,5	17,5	28,6	53,6	7,7	18,2	52,1 mg%	1,10 %

Zur Berechnung des Ei gehaltes aus der Lecithin-P₂O₅ muss man zunächst den Lecithingehalt des Volleipulvers kennen. Ausserdem muss berücksichtigt werden, dass nicht nur Eidotter, sondern auch noch andere Bestandteile des Nährmittels, vor allem Kakao und Milchpulver, Lecithin oder Phosphatide enthalten. Der

gefundene Wert muss daher entsprechend korrigiert werden. In der Literatur findet man über den Lecithingehalt von Kakao und Milch verschiedene, jedoch nicht immer übereinstimmende Angaben.

a) Lecithin-P₂O₅-Gehalt von Eidotter und Volleipulver

Der Gehalt an Lecithin-P₂O₅ von Volleipulver wurde von verschiedenen Autoren bestimmt. Im Handbuch der Eierkunde²⁹⁾ sind die von verschiedenen Forschern angegebenen Werte zusammengestellt. Für verschiedene Trockenvollei des Handels schwankt der Gehalt an Lecithin-P₂O₅ in der Trockensubstanz von 1,09 bis 1,36. Der Mittelwert von 7 Proben beträgt 1,31 %. *R. Viollier*³⁰⁾ fand im Trockenvollei Werte von 1,23 bis 1,44 %. Der Mittelwert von 6 Proben betrug 1,34 %. Nach unserer Methode, wobei für die Lecithinbestimmung je 2 g Eipulver verarbeitet worden sind, fanden wir in 3 Volleipräparaten des Handels die in Tabelle 10 aufgeführten Werte.

Tabelle 10

Präparat	Wassergehalt	Lecithin-P ₂ O ₅	Lecithin-P ₂ O ₅ in der Trockensubstanz
1 Volleipulver aus USA	4,0	1,12	1,17
2 Volleipulver aus USA	5,1	1,12	1,18
3 Volleipulver aus USA	6,5	1,13	1,21

Die Übereinstimmung mit den Literaturangaben ist befriedigend. Nach unserer Methode werden eher etwas niedrigere Werte gefunden, was mit der abweichenden Arbeitsweise zusammenhängen kann. Möglicherweise werden bei der Behandlung der Präparate mit warmem Wasser anorganische Phosphate gelöst und ausgewaschen, die bei der direkten Alkoholextraktion zum Teil ebenfalls mitbestimmt werden und Lecithin vortäuschen.

Zur Berechnung des Gehaltes an Trockenvollei aus der Lecithinphosphorsäure (nach Abzug der Korrekturen für Kakao und Milchpulver) haben wir den nach unserer Methode gefundenen Mittelwert von 1,2 % Lecithin-P₂O₅ verwendet.

b) Phosphatidgehalt des Kakao

Die Frage, ob die Kakaobohne von Natur aus Lecithin enthalte, ist von verschiedenen Forschern geprüft und bejaht worden. *Rewald*³¹⁾ hat aus dem Phosphorsäuregehalt des mit Alkohol-Benzol hergestellten Auszuges von Kakaobohnen auf das Vorhandensein von Lecithin geschlossen. *Winkler* und *Sale*³²⁾ kommen durch die Phosphorsäurebestimmung des mit Petroläther und Alkohol

erhaltenen Extraktes zu ähnlichen Ergebnissen. In quantitativer Hinsicht zeigten sich aber erhebliche Unterschiede, was vermutlich auf die verschiedene Arbeitsweise zurückzuführen ist.

Nach eingehenden Untersuchungen von *Nottbohm* und *Mayer*³³⁾ stimmt aber der nach ihrem Verfahren ermittelte Cholingeinhalt mit dem Gehalt an alkohollöslicher Phosphorsäure nicht überein. Aus dem P₂O₅-Gehalt berechnet sich etwa die doppelte Menge «Lecithin» wie aus dem Cholingeinhalt. Sie schliessen daraus, dass freies Lecithin in den Kakaobohnen überhaupt nicht enthalten ist und dass sowohl ein Teil der alkohollöslichen Phosphorsäure wie des Cholins in anderer Form als Lecithin vorhanden sein muss. Es wird sich demnach empfehlen, bei den Kakaobohnen nicht von Lecithinen, sondern von Phosphatiden zu reden.

Nottbohm und *Mayer* (loc. cit.) fanden im alkoholischen Auszug von zwei verschiedenen Kakaosorten 68,7 und 69,5 mg^{0/0} P₂O₅, berechnet auf fettfreie Trockenmasse. Wir fanden nach unserer am Schluss dieser Arbeit beschriebenen Methode in einem «löslichen» Kakao des Handels in guter Übereinstimmung mit diesen Werten 74 mg^{0/0} Phosphatid-P₂O₅ in der fettfreien Kakaomasse (siehe Tabelle 12). Unseren Berechnungen in der Tabelle 8 wurde dieser Wert zu Grunde gelegt.

c) *Lecithingehalt des Milchpulvers*

Die Tatsache, dass in der Milch beträchtliche Mengen Lecithine und Phosphatide enthalten sind, ist längst sichergestellt. Die Angaben der verschiedenen Forscher über die Mengenverhältnisse gehen aber ziemlich auseinander, je nach den angewendeten Untersuchungsmethoden.

Nach Angaben des Handbuches³⁴⁾ kommen in der Kuhmilch Lecithin und Kephalin vor. Der Gehalt schwankt von 25 bis 45 mg^{0/0}. Bei Entrahmung der Milch bleiben die Phosphatide fast quantitativ in der Magermilch zurück. Nach *König*³⁵⁾ enthält die Kuhmilch 36—116 mg^{0/0} Lecithin. Nach Angaben von *Rewald*³⁶⁾ enthält Frischmilch 18,3 mg^{0/0} Lecithin und 13 mg^{0/0} Kephalin. Nähere Angaben über den Phosphatidgehalt von Milchpulver haben wir nicht gefunden. Aus den von *Rewald* angegebenen Werten für Frischmilch berechnet sich der Gehalt an Phosphatid-P₂O₅ der Milchrockensubstanz zu ca. 30 mg^{0/0} P₂O₅.

Eigene Angaben, nach der gleichen Methode durchgeführt wie für Nährmittel beschrieben, ergaben folgende Werte (vgl. Tabelle 5):

$$\begin{array}{ll} \text{Magermilchpulver} & = 17 \text{ mg}^0/\text{o Phosphatid-P}_2\text{O}_5 \\ \text{Vollmilchpulver} & = 20 \text{ mg}^0/\text{o Phosphatid-P}_2\text{O}_5 \end{array}$$

Wir haben zur Berechnung der Korrektur am gefundenen Lecithin-P₂O₅-Gehalt in Tabelle 8 für Vollmilch- und Magermilchpulver einheitlich 20 mg^{0/0} Phosphatid-P₂O₅ angenommen.

Die Berechnung des Ei gehaltes aus dem Phosphatid-P₂O₅-Gehalt, unter Berücksichtigung der Korrekturen für Kakao- und Milchphosphatide, ist für alle

untersuchten Präparate in der Tabelle 8 dargestellt. Der Gehalt an Kakao wurde aus dem Theobromingehalt, derjenige an Milchpulver aus Casein und Milchfett berechnet. Es wird zunächst die Korrektur für die Kakao- und Milchphosphatide berechnet und vom gefundenen Lecithin-P₂O₅-Gehalt subtrahiert. Die Differenz (Lecithin-P₂O₅ korrigiert) entspricht dem Lecithin-P₂O₅-Gehalt, welcher aus dem Ei stammt. Da Volleipulver im Mittel 1,2 % Lecithin-P₂O₅ enthält, beträgt der

$$\text{Gehalt an Trockenvollei} = \frac{\text{Lecithin-P}_2\text{O}_5 \text{ korr. in mg}^0/\text{o}}{12}$$

In Modellmischungen von genau bekannter Zusammensetzung wurden annähernd die berechneten Werte für Phosphatid-P₂O₅ gefunden, wie aus den Zahlen der Tabelle 11 hervorgeht. Damit dürfte die Brauchbarkeit unserer Methode bewiesen sein.

Tabelle 11

	Phosphatid-P ₂ O ₅ -Gehalt %	Modellmischung I		Modellmischung II	
		enthält in %	Phosphatid-P ₂ O ₅ -Anteil	enthält in %	Phosphatid-P ₂ O ₅ -Anteil
Kakao	57	15	8,5	15	8,5
Magermilchpulver	17	10	1,7	17,5	3,0
Vollmilchpulver	20	10	2,0	0	—
Malzextrakt	—	60	—	42,5	—
Volleipulver	1,14	5	57,0	0	—
Rohrzucker	—	0	—	25	—
Phosphatid-P ₂ O ₅ berechnet mg ⁰ /%			69,2		11,5
Phosphatid-P ₂ O ₅ gefunden mg ⁰ /%			65,2		8,1

Bestimmung des Theobromins

Zur Berechnung der fettfreien Kakaomasse wurde der Theobromingehalt herangezogen.

Die Bestimmung des Theobromins erfolgte nach der Perforationsmethode von *Pritzker* und *Jungkunz*³⁷⁾. Bei Kakao oder Schokolade wird zur Theobrominbestimmung in der Regel die entfettete Trockensubstanz verwendet. Bei unseren diätetischen Produkten ist ein Entfetten kaum möglich, weil das Fett von Zucker und Malzextrakt eingehüllt wird. Wir haben in allen Fällen die ursprüngliche Substanz verwendet und auch auf diese Weise gut reproduzierbare Resultate erzielt.

Während aus fettfreier Kakaomasse in der Regel ein ziemlich reines, fast farbloses Roh-Theobromin erhalten wird, ist das aus diätetischen Nährmitteln isolierte Roh-Theobromin stets gelb bis braun verfärbt. Vermutlich gelangen bei der Perforation mit Chloroform (wasserhaltig!) Spuren von Zucker in den Chloroformauszug. Wir haben daher in dem durch Perforation isolierten Roh-Theobromin den N-Gehalt nach *Kjeldahl* ermittelt und hieraus das Rein-Theobromin berechnet. Das Roh-Theobromin enthielt zwischen 76 und 85 % Rein-Theobromin.

In einem Kakao, welcher später zu den Modellversuchen verwendet wurde, fanden wir die in Tabelle 12 aufgeführten Werte:

Tabelle 12
Zusammensetzung von solubilisiertem Kakao

Fettgehalt	23,2	0/0
Fettfreie Kakaomasse	76,8	0/0
Roh-Theobromin	2,58	0/0
Rein-Theobromin	2,41	0/0
Rein-Theobromin in der fettfreien Kakaomasse	3,14	0/0
Phosphatid-P ₂ O ₅	57	mg ⁰ /0
Phosphatid-P ₂ O ₅ berechnet auf fettfreie Kakaomasse	74	mg ⁰ /0
Sterinengehalt des Kakaos	95	mg ⁰ /0
Sterinengehalt des Kakaofettes	410	mg ⁰ /0

Pritzker und *Jungkunz* fanden im Mittel in fett- und wasserfreier Kakaomasse 3,5 % Roh-Theobromin. Zur Berechnung der fettfreien Kakaomasse aus dem Theobromingehalt nahmen wir in allen Fällen einen mittleren Gehalt derselben an Rein-Theobromin *) von 3,2 % an. Somit beträgt:

$$\text{fettfreie Kakaomasse} = \frac{\text{Rein-Theobromin}}{0,032}$$

*) Bei 14 Kakaosorten des Handels, welche wir unterdessen untersucht haben, schwankte der Roh-Theobromingehalt der fettfreien Trockenmasse zwischen 2,95 und 3,85 %. Er betrug im Mittel 3,35 %.

Tabelle 13

Berechnung des Mager-

	Nr.	1	2	3	4
Volleipulver (Mittelwert)		3,6	1,2	0,7	1,0
Milchfett		3,2	1,7	1,9	1,9
Roh-Casein		6,42	4,86	3,68	4,91
Korrektur am Casein wegen Ei gehalt (1 % Vollei täuscht 0,32 % Casein vor)		1,15	0,38	0,22	0,32
Rein-Casein		5,27	4,48	3,46	4,59
Gesamte fettfreie Milchtrockensubstanz (Rein-Casein)		16,2	13,8	10,6	14,1
0,325					
Vollmilchpulver (Milchfett \times 4)		12,8	6,8	7,6	7,6
Dem Vollmilchpulver entsprechende Menge fettfreie Milchtrockensubstanz (Milchfett \times 3)		9,6	5,1	5,7	5,7
Magermilchpulver (gesamte fettfreie Trockensubstanz minus fettfreie Trockensubstanz des Vollmilchpulvers)		6,6	8,7	4,9	8,4
Mager- und Vollmilchpulver		19,4	15,5	12,5	16,0

Die Berechnung des Mager- und Vollmilchpulvers wird durch die Beispiele in Tabelle 13 veranschaulicht. Zur Berechnung der gesamten fettfreien Milchtrockensubstanz benützen wir den Caseingehalt. Am gefundenen Roh-Casein ist zunächst eine Korrektur für den Ei gehalt des Präparates anzubringen, und zwar sind für jedes Prozent Trockenei 0,32 % vom Roh-Casein zu subtrahieren. Das Rein-Casein ist der gesamten fettfreien Milchtrockensubstanz proportional. Letztere enthält im Mittel 32,5 % Casein.

Zur Berechnung des Milchfettgehaltes (Fm) im Präparat dienen Gesamtfett (Fg) und Halbmikro-Buttersäurezahl (HBuZ).

Die Berechnung des Vollmilchpulvers erfolgt aus dem Milchfettgehalt. Da Vollmilchpulver normalerweise 25 % Fett enthält, ergibt die Multiplikation des Milchfettgehaltes mit 4 den Gehalt an Vollmilchpulver.

und *Vollmilchpulvers*

5	6	7	8	9	10	11	12	Modell-mischung I	Modell-mischung II
0,2	2,2	4,4	0,8	1,0	0,9	1,0	3,5	4,8	0
0,1	0,9	2,3	1,5	5,7	2,0	0,3	0,2	2,67	0
3,22	5,60	5,74	9,17	9,54	3,70	2,21	0,78	7,47	5,73
0,06	0,70	1,41	0,26	0,32	0,29	0,32	1,1	1,54	—
3,16	4,90	4,33	8,91	9,22	3,41	1,89	0	5,93	5,73
9,7	15,1	13,3	27,4	28,4	10,5	5,8	0	18,3	17,6
0,4	3,6	9,2	6,0	22,8	8,0	1,2	0,8	10,7	0
0,3	2,7	6,9	4,5	17,1	6,0	0,9	0,6	8,0	0
9,4	12,4	2,3	22,9	11,3	3,5	4,8	0	10,3	17,6
9,8	16,0	11,5	28,9	34,1	11,5	6,0	0	21,0	17,6

Das Magermilchpulver berechnet man schliesslich aus der Differenz: gesamte fettfreie Milchtrockensubstanz (fMTr) minus fettfreie Milchtrockensubstanz des berechneten Vollmilchpulvers (VM).

Es gelten folgende Formeln:

1. Milchfettgehalt im Präparat $= \frac{Fg \cdot HBuZ}{20}$
2. Fettfreie Milchtrockensubstanz (MTr) $= \frac{\text{Rein-Casein}}{0,325}$
3. Vollmilchpulver (VM) $= 4 \cdot Fm$
4. Magermilchpulver (MM) $= fMTr - \frac{3}{4} VM$

Bestimmung der Mineralstoffe

Wir bestimmten Asche, CaO und P₂O₅ nach den im Abschnitt Methodik angegebenen Vorschriften.

Bilanz der Aschenbestandteile

Diätetischen Nährmitteln werden gelegentlich auch Salze, beispielsweise Calciumphosphat, zugesetzt. Um zu entscheiden, ob die von uns untersuchten Präparate derartige Zusätze erhalten haben, sind die natürlichen CaO- und P₂O₅-Gehalte der einzelnen Präparate berechnet worden.

Voraussetzung dafür war, dass man zunächst die ungefähre Zusammensetzung der Präparate, wie sie auf Grund der Analysen in Tabelle 18 unten berechnet worden ist, kennt. Dann berechnet man den CaO- und P₂O₅-Anteil der verschiedenen verarbeiteten Bestandteile, wie Malzextrakt, Kakao, Milch und Ei.

Für die CaO- und P₂O₅-Gehalte der genannten Lebensmittel finden sich in der Literatur nur wenige, oder ziemlich voneinander abweichende Angaben. Wir haben daher diese Werte in einigen Produkten ebenfalls ermittelt. In Tabelle 14 sind sowohl die eigenen als auch die Zahlenwerte aus der Literatur, welche wir für unsere Zwecke umgerechnet haben, angeführt.

Tabelle 14

	Trocken-Malz-extrakt	Milchpulver ber. auf fettfreie Trocken-substanz	Kakao solub. ber. auf fettfreie Trocken-substanz	Ei-trocken-substanz
<i>CaO-Gehalt</i>	0/0	0/0	0/0	0/0
Mittelzahl aus der Literatur umger. Eigene Bestimmungen	— 0,16	1,6 1,75—1,85	— 0,26	0,45 —
<i>P₂O₅-Gehalt</i>	0/0	0/0	0/0	0/0
Mittelzahl aus der Literatur umger. Eigene Bestimmungen	— 0,6	2,0 2,16—2,20	— 1,95	1,9 —
<i>Gesamtasche</i>	0/0	0/0	0/0	0/0
aus der Literatur umgerechnet Eigene Bestimmungen	1,5 1,4	7,9 7,21—7,50	— 11,9	3,9 —

Aus den Bilanzzahlen in der Tabelle 15 ist ersichtlich, dass die meisten der geprüften Präparate keine künstlichen Zusätze an CaO und P₂O₅ erhalten haben. Die berechneten Werte stimmen meistens gut mit den gefundenen überein. Ge-

ringe Abweichungen von 0,1—0,2 % sind belanglos und liegen innerhalb der natürlichen Schwankungen. Eine grössere Differenz, welche auf einen Zusatz von CaO und P₂O₅ hindeutet, kommt nur beim Präparat Nr. 11 vor. Bei diesem Spezialpräparat, welches den Vorschriften der kantonalen Heilmittelgesetzgebung unterliegt, wird ein Zusatz von Calciumphosphoricum bibasicum deklariert. Aus unseren Analysen berechnet sich

aus dem CaO-Überschuss ein Zusatz von 1,6 % CaHPO₄ · 2H₂O und

aus dem P₂O₅-Überschuss ein solcher von 1,8 % dieses Salzes.

Es kann daraus geschlossen werden, dass somit rund 2 % Calciumphosphat beigemischt worden sind.

Bestimmung der diastatischen Kraft

Unter «diastatischer Kraft» oder amyloytischer Wirkung versteht man die Fähigkeit eines Präparates, gelöste Stärke in Zucker (Maltose) und Dextrin abzubauen.

Die Bestimmung der diastatischen Kraft von Nährmitteln erlaubt festzustellen, ob Malzextrakt vorliegt und ob die betreffenden Präparate mit der erforderlichen Sorgfalt hergestellt worden sind. Bei starker Erhitzung (80—100°) werden die Enzyme (Amylasen) denaturiert und verlieren ihre Wirksamkeit. Bei überhitzten Präparaten sinkt die diastatische Kraft rasch gegen Null ab.

Zur Bestimmung der diastatischen Kraft haben wir versucht, die von der Lebensmittelbuch-Kommission ausgearbeitete und für Malzextrakt vorgeschlagene Methode anzuwenden. Das Prinzip dieser Methode ist kurz folgendes:

Man lässt eine bekannte Menge einer Malzextraktlösung (Stammlösung) bei 20° auf eine gepufferte Stärkelösung einwirken. Nach 30 Minuten wird der enzymatische Vorgang durch Zusatz von NaOH sistiert und in einem aliquoten Teil der Lösung die gebildete Maltose gravimetrisch nach *Fehling* bestimmt.

Unter der Voraussetzung, dass immer die gleiche lösliche Stärke verwendet wird, liefert die Methode bei reinem Malzextrakt gut reproduzierbare Werte. Bei diätetischen Nährmitteln liegen die Verhältnisse etwas komplizierter, weil diese beträchtliche Mengen unlöslicher Stoffe, wie Milchpulver, Kakao, Ei- bestandteile und Fett enthalten. Diese Stoffe müssen vor der Zuckerbestimmung entfernt werden. Eine Klärung der Stammlösung etwa mittels *Carrez*-Lösung oder Kupfersulfat vor der enzymatischen Reaktion darf nicht vorgenommen werden, weil dadurch die Fermente (Eiweisskörper!) wenigstens teilweise aus gefällt und vom Niederschlag zurückgehalten würden. Die Enzymreaktion muss also stets mit einer Aufschämmung des Nährmittels ausgeführt werden. Um nach 30 Minuten Einwirkungszeit die Fermente zu inaktivieren, wird nach der Originalvorschrift NaOH zugesetzt.

Tabelle 15

Bilanz der Aschen-

Im Mittel enthält:	Malzextrakt fettfreie Kakaomasse	%		CaO	P ₂ O ₅
		1	2	0,16	0,6
				0,26	2,0
		Nr.	1	2	3
					4
Malzextrakt	%	61,5	64,2	52,2	43,9
Fettfreie Kakaomasse	%	10,6	12,2	9,4	11,2
Fettfreie Milchtrockensubstanz	%	16,2	13,8	10,6	14,1
Eipulver	%	3,6	1,2	0,7	1,0
CaO-Gehalt					
des Malzextraktes		0,10	0,11	0,08	0,07
der Kakaomasse		0,03	0,03	0,02	0,03
des Milchpulvers		0,26	0,22	0,17	0,22
des Eipulvers		0,02	0,01	0	0,01
	Total	0,41	0,37	0,27	0,33
Im Präparat gefunden		0,50	0,35	0,39	0,29
Differenz = zugesetzt		+0,09	-0,02	+0,12	-0,04
P ₂ O ₅ -Gehalt					
des Malzextraktes		0,37	0,39	0,31	0,26
der Kakaomasse		0,21	0,24	0,19	0,22
des Milchpulvers		0,32	0,28	0,21	0,28
des Eipulvers		0,07	0,02	0,01	0,02
	Total	0,97	0,93	0,72	0,78
Im Präparat gefunden		1,25	1,00	0,77	0,90
Differenz = zugesetzt		+0,28	+0,07	+0,05	+0,12

bestandteile

			% CaO		% P ₂ O ₅	
fettfreie Milchtrockensubstanz			1,6	2,0		
Eipulver			0,45	1,9		

5	6	7	8	9	10	11	12	Modell-mischung I	Modell-mischung II
56,8	53,7	53,9	27,2	28,8	23,5	6,3	85,1	57,3	40,5
8,9	8,0	8,0	8,1	6,1	11,6	30,6	0	11,2	10,9
9,7	15,1	13,3	27,4	28,4	10,5	5,8	0	18,0	17,6
0,2	2,2	4,4	0,8	1,0	0,9	0,9	3,0	4,8	0
0,09	0,09	0,09	0,04	0,05	0,04	0,01	0,14	0,09	0,06
0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,11	0	0,03	0,03
0,16	0,24	0,21	0,44	0,45	0,17	0,09	0	0,29	0,28
0	0,01	0,02	0	0,01	0	0	0,01	0,02	0
0,27	0,36	0,34	0,50	0,53	0,24	0,21	0,15	0,43	0,37
0,26	0,32	0,29	0,61	0,58	0,27	0,72	0,07	0,38	0,36
-0,01	-0,04	-0,05	+0,11	+0,05	+0,03	+0,51	-0,08	-0,05	-0,01
0,34	0,32	0,32	0,16	0,17	0,14	0,04	0,51	0,34	0,24
0,18	0,16	0,16	0,16	0,12	0,23	0,61	0	0,22	0,22
0,19	0,30	0,27	0,55	0,57	0,21	0,12	0	0,36	0,35
0	0,04	0,08	0,01	0,02	0,02	0,02	0,06	0,09	0
0,71	0,82	0,83	0,88	0,88	0,60	0,79	0,57	1,01	0,81
0,68	0,72	0,71	1,01	0,97	0,72	1,55	0,42	1,05	0,84
-0,03	-0,10	-0,12	+0,13	+0,09	+0,12	+0,76	-0,15	+0,04	+0,03

Eine Klärung dieser stark alkalischen Lösung ist uns nicht in befriedigender Weise gelungen. Beim Filtrieren ohne irgendwelchen Zusatz erhält man eine trübe kolloide Lösung, die sich sehr schlecht filtrieren lässt. Ein Zusatz von *Carrez*-Lösung wirkte nicht gut, weil die *Carrez*-Fällung stets in annähernd neutralem Milieu durchgeführt werden sollte. Das Filtrat war in allen Fällen mehr oder weniger trüb. Ebenso versagte die Reinigung mit *Fehling*'scher Kupfersulfatlösung. Gerade diese Methode, die zur Klärung in schwach saurem Milieu bei allen untersuchten Nährmitteln gute Dienste leistet, versagt in alkalischem Medium, weil kolloidales Kupferhydroxyd und gewisse Eiweisstoffe in Lösung bleiben.

Wir sahen uns aus diesen Gründen genötigt, zur Unterbrechung der Enzymtätigkeit ein anderes Reagens als NaOH zu suchen, welches die Enzymreaktion in neutraler oder schwach saurer Lösung sistiert. Der eine von uns³⁸⁾ hat bereits früher bei Zuckerbestimmungen in Weizenkeimen und Mahlprodukten die unerwünschte Wirkung der Amylase der Weizenkeime durch Zusatz von Sublimatlösung ausgeschaltet. Diese Methode lässt sich ohne weiteres auch auf die diätetischen Nährmittel übertragen. HgCl₂ unterbricht die Fermenttätigkeit augenblicklich. Da jedoch Quecksilber-Ionen bei der *Fehling*'schen Zuckerbestimmung stören, wird der Überschuss mit Na₂S entfernt. Die Klärung der Lösung erfolgt dann in schwach saurer Lösung durch CuSO₄, wobei gleichzeitig das überschüssige Natriumsulfid entfernt wird. Die Lösung wird filtriert und in einem aliquoten Teil des Filtrates der Zucker gravimetrisch oder titrimetrisch bestimmt.

Die Wirksamkeit des Quecksilber-Ions als Fermentgift wird durch die Versuche in der Tabelle 16 bewiesen.

Bei der Serie A wurden die Versuche mit einem diätetischen Nährmittel (Nr. 1) durchgeführt. Die Stammlösung enthielt 5,0 g Substanz in 100 cm³ Aufschlämmung.

Beim Hauptversuch 1 wurden 5 cm³ dieser Stammlösung (250 mg Substanz) während 30 Minuten bei 20° auf 50 cm³ Stärkelösung und 2,5 cm³ Pufferlösung einwirken gelassen. Dann wurde die Fermentreaktion mit 2 cm³ HgCl₂ sistiert, die Lösung mit Na₂S und CuSO₄ geklärt und im Filtrat der Zucker jodometrisch nach der am Schluss angegebenen Methode bestimmt.

Beim Blindversuch wurden erst unmittelbar vor der Zuckerbestimmung 5 cm³ Stammlösung in die mit 2 cm³ HgCl₂ versetzte Stärke-Puffermischung gegeben. Aus der Differenz dieser 2 Bestimmungen lässt sich die diastatische Kraft berechnen *).

*) Die Differenz (Hauptversuch minus Blindversuch) beträgt 105 mg Maltose. Diese Zuckermenge wurde durch die in 250 mg Substanz enthaltene Amylase gebildet. 100 g Substanz würden $100 \cdot \frac{105}{250} = 42$ g Maltose bilden. Laut Definition gibt dieser Wert die diastatische Kraft des Präparates in *Lintner*-Einheiten an.

Bei den Versuchen 3 bis 5 wurde die Stärkelösung mit steigenden Mengen HgCl_2 versetzt, dann je 5 cm^3 Stammlösung zugegeben, 30 Minuten in ein Wasserbad von 20° eingestellt und hierauf weiter verfahren wie beim Hauptversuch. Aus den Zahlen ist ersichtlich, dass bereits ein Zusatz von $0,5 \text{ cm}^3 \text{ HgCl}_2$ (entsprechend 5 mg HgCl_2 auf 250 mg Substanz) die Amylase fast vollständig inaktiviert. In 30 Minuten sind nur noch Spuren Stärke verzuckert worden. $2,5 \text{ cm}^3 \text{ HgCl}_2$, wie in der endgültigen Vorschrift angegeben wird, genügen sicher in allen Fällen, um die Analyse vollständig zu inaktivieren.

Bei analogen Versuchen der Serie B mit einem reinen Trockenmalzextrakt ergaben sich ähnliche Resultate. Auch hier genügt bereits $1 \text{ cm}^3 \text{ HgCl}_2$ zur Inaktivierung der Amylase.

Diastatische Kraft von Modellmischungen

Die neue Methode wurde auch an selbst hergestellten Modellmischungen ausprobiert. Dabei ergaben sich nicht ganz die theoretisch berechneten Resultate, wie aus nachstehenden Versuchen ersichtlich ist.

Im Trockenmalzextrakt, welcher für die Modellmischungen verwendet wurde, fanden wir bei 3 Parallelbestimmungen in guter Übereinstimmung die Werte

48,9	Lintner-Einheiten (LE)
49,8	
51,1	
im Mittel	50,0

Modellmischung I enthielt 60 % Trockenmalzextrakt.

Diastatische Kraft berechnet = 30,0 LE

Diastatische Kraft gefunden = 24,8 LE (= 83 % des berechneten Wertes)

Modellmischung II enthielt 42,5 % Trockenmalzextrakt.

Diastatische Kraft berechnet = 21,3 LE

Diastatische Kraft gefunden = 18,1 LE (= 85 % des berechneten Wertes)

Die diastatische Kraft der Modellmischungen wurde niedriger gefunden, als dem darin enthaltenen Malzextrakt entsprechen würde. Die Mischung enthält demnach Stoffe, welche die Amylasewirkung hemmen. Es dürfte sich dabei am ehesten um Gerbstoffe aus dem Kakao handeln, welche einen Teil des Ferments inaktivieren.

Beurteilung

Die Hauptmenge der Amylase stammt aus dem Malzextrakt. In der Milch und im Honig ist ebenfalls Amylase enthalten. Die diastatische Kraft der Milch³⁹⁾ oder des Honigs⁴⁰⁾ ist aber gegenüber derjenigen des Malzextraktes verschwindend klein, so dass sie vernachlässigt werden kann.

Die diastatische Kraft reiner, im Vakuum sorgfältig eingedampfter Malzextrakte beträgt in der Regel 40—80 *Lintner*-Einheiten. Bei diätetischen Nährmitteln wird die diastatische Kraft in erster Linie vom Malzextraktgehalt abhängig sein. Gute Präparate enthalten 40—60 % Malzextrakt. Die diastatische Kraft solcher Produkte dürfte demnach zwischen 16 und 48 *Lintner*-Einheiten schwanken. Nach unseren Erfahrungen ist eine diastatische Kraft von weniger als 10 *Lintner*-Einheiten als gering zu betrachten. Derartige Präparate enthalten entweder nur sehr wenig Malzextrakt, wie beispielsweise Nr. 11, oder aber die Amylase ist bei der Fabrikation oder infolge zu langer Lagerung geschädigt worden, wie dies bei Nr. 3 und Nr. 12 der Fall ist. Dieses letztere Präparat, welches fast zur Hauptsache aus Malzextrakt besteht, weist eine verschwindend kleine diastatische Kraft von nur 1 *Lintner*-Einheit auf. Es scheint sich hier um einen Fabrikationsfehler, vermutlich Überhitzung, zu handeln.

Tabelle 16
Inaktivierung der Amylase durch $HgCl_2$

Nr.	Versuch	cm ³ 10%ige $HgCl_2$ -Lösung	reduz. Zucker ber. als Maltose
	<i>A. Versuche mit Nährmittel Nr. 1</i>		mg in 100 cm ³
1	Hauptversuch (5 cm ³ Stammlösung + 50 cm ³ Stärke)	—	296
2	Blindversuch	—	191
3	Wie Nr. 1, aber mit $HgCl_2$	0,5	195
4	Wie Nr. 1, aber mit $HgCl_2$	1,0	190
5	Wie Nr. 1, aber mit $HgCl_2$	2,0	184
	<i>B. Versuche mit Trockenmalzextrakt</i>		
6	Hauptversuch (5 cm ³ Stammlösung + 50 cm ³ Stärke)	—	359
7	Blindversuch	—	234
8	Wie Nr. 6, aber mit $HgCl_2$	1,0	241
9	Stärkelösung allein	—	40

Modellversuche

Die beschriebenen Untersuchungsmethoden wurden, wie bereits mehrfach erwähnt, auch an 2 Präparaten von genau bekannter Zusammensetzung nachgeprüft. Diese Modellmischungen, welche typischen Handelspräparaten ange-

passt sind, wurden durch inniges Mischen der Bestandteile *) nach folgendem Rezept hergestellt:

	Modellmischung I %	Modellmischung II %
Vollmilchpulver	10,0	0
Magermilchpulver	10,0	17,5
Kakao	15,0	15,0
Rohrzucker	0	25,0
Trockenmalzextrakt	60,0	42,5
Volleipulver	5,0	0

Mischung I entspricht einem vollwertigen Präparat. Es enthält gleiche Teile Vollmilchpulver und Magermilchpulver, 5 % Volleipulver (entsprechend 4,80 % Trockensubstanz), aber keinen Rohrzucker.

Mischung II stellt ein weniger wertvolleres Produkt dar. Es enthält nur Magermilchpulver, kein Eipulver, und ausserdem wurde ein Teil des Malzextraktes durch Rohrzucker ersetzt. Die fettfreie Milchtrockensubstanz und der Kakaogehalt sind in beiden Präparaten genau gleich.

Die Analysen, sowie die Berechnungen, welche in der Tabelle 17 unter der Rubrik «gefunden» angegeben sind, wurden genau nach den am Schluss dieser Arbeit beschriebenen Methoden und Formeln durchgeführt. Die gefundenen Werte stimmen fast durchwegs gut mit den theoretischen Werten der Mischung («berechnet») überein, womit die Brauchbarkeit der beschriebenen Methoden bewiesen sein dürfte. Gewisse Abweichungen, wie beispielsweise beim Milchfettgehalt oder dem aus Cholesterin, bzw. Lecithin-P₂O₅ berechneten Ei gehalt sind auf natürliche Schwankungen der Zusammensetzung der verwendeten Naturprodukte zurückzuführen. Das zum Modellversuch I verwendete Eipulver wies z.B. einen etwas höheren Cholesteringehalt auf (2,20 %) als der in die Formel eingesetzte Mittelwert (2,10 %). Daher ergab die Rechnung auch etwas mehr Eipulver.

Die diastatische Kraft der Modellmischungen wurde etwas niedriger gefunden, als den aus dem Malzextrakt berechneten Werten entsprechen würde. Wie bereits erwähnt, sind vermutlich im Kakao Stoffe enthalten, welche die Enzymwirkung hemmen.

In Tabelle 17 unten ist bei den aus der Analyse berechneten Zusammensetzung zu berücksichtigen, dass Malzextrakt ca. 5 % Saccharose enthält. Der gefundene Saccharosegehalt fällt daher etwas zu hoch und der aus der Differenz berechnete Malzextraktgehalt etwas zu niedrig aus. Diese Fehler können aber in der Regel vernachlässigt werden.

*) Den Firmen Dr. A. Wander AG, Bern, und der Berneralpen Milchgesellschaft, Stalden, möchten wir an dieser Stelle für die freundliche Zustellung der für unsere Versuche benötigten Proben Malzextrakt und Milchpulver bestens danken.

Tabelle 17
Analyse der Modellmischungen

	Modellmischung I		Modellmischung II	
	gefunden	berechnet	gefunden	berechnet
	0/0	0/0	0/0	0/0
Gesamtprotein	14,40	—	10,80	—
Roh-Casein	7,47	—	5,73	—
Rein-Casein (siehe Tab. 13)	5,87	5,70	5,73	5,70
Fettfreie Milchtrockensubstanz (berechnet aus Rein-Casein)	18,3	17,5	17,6	17,5
Lösliche Kohlehydrate	69,3	—	77,2	—
Saccharose	2,94	3,03	27,60	27,16
Gesamtfett	7,63	7,79	3,39	3,48
Refraktionszahl bei 40° C				
Buttersäurezahl	7,0	—	0	0
Milchfett im Gesamt fett 0/0	35,0	31,9	0	0
Milchfett im Präparat (Milchfett×4) 0/0	2,67	2,48	0	0
Eieröl (berechnet aus Cholesterin) ca. 0/0	1,8	1,83	0	0
Kakaobutter (Differenz) 0/0	3,16	3,48	3,39	3,48
Vollmilchpulver (Milchfett×4)	10,7	10,0	0	0
Magermilchpulver (siehe Tab. 13)	10,3	10,0	17,6	17,5
Theobromin	0,358	0,361	0,350	0,361
Fettfreie Kakaomasse (berechnet aus Theobromin)	11,2	11,5	10,9	11,5
Lecithin- und Phosphatid-P ₂ O ₅ mg 0/0	65,2	—	8,1	—
Cholesterin mg 0/0	130,0	131,9	20,0	14,2
Vollei berechnet aus Lecithin-P ₂ O ₅ 0/0 (siehe Tab. 8)	4,4	4,80	-0,3	0
Vollei berechnet aus Cholesterin 0/0 (siehe Tab. 8)	5,2	4,80	0,3	0
Rohfaser 0/0	1,0		1,1	
Asche 0/0	3,50		2,96	
CaO	0,38	0,44	0,36	0,38
P ₂ O ₅	1,05	0,96	0,84	0,75
Diastatische Kraft in <i>Lintner</i> -Einheiten	25	30	18	21
<i>Zusammensetzung:</i>	nach Analyse	in der Mischung	nach Analyse	in der Mischung
1. Vollmilchpulver	10,7	10,0	0	0
2. Magermilchpulver	10,0	10,0	17,6	17,5
3. Kakao (fettfr. Kakaomasse + Kakaofett)	14,2	15,0	14,3	15,0
4. Rohrzucker	2,9	0	27,6	25,0
5. Malzextrakt (Differenz)	57,3	60,0	40,5	42,5
6. Gehalt an Trockenvollei	4,8	4,80	0	0

Besprechung der Untersuchungsergebnisse verschiedener Handelspräparate

Es wurden 12 verschiedene Handelspräparate nach dem am Schluss dieser Arbeit angegebenen Analysengang untersucht. Die gefundenen Analysenzahlen und die daraus berechnete ungefähre Zusammensetzung der Präparate sind in Tabelle 18 aufgeführt. Demnach lassen sich die untersuchten Produkte in folgende Gruppen einteilen:

- a) Ungesüßte Präparate, welche als Hauptbestandteil Malzextrakt, daneben Kakao, Milchpulver und Eier enthalten.
- b) Präparate mit ähnlicher Zusammensetzung wie unter a), jedoch mit Rohrzucker gesüßt.
- c) Sogenannte «Sport»-Präparate.

Im Gegensatz zu den Präparaten der Gruppen a) und b), welche in der Regel in Milch aufgelöst werden, ergeben die «Sport»-Präparate beim blosen Auflösen in Wasser ein gutes, trinkfertiges Getränk. Sie enthalten bedeutend mehr Milchpulver und Rohrzucker als die zuerst genannten Produkte.

- d) Produkte, welche zur Hauptsache aus Rohrzucker und Kakao mit geringen Mengen spezieller Zusätze wie Lecithin, oder Vitaminpräparaten bestehen, gelegentlich auch Nährsalze oder medikamentöse Zusätze enthalten und trocken gemischt werden.

a) Die Präparate Nr. 1 und 2 in Tabelle 18 sind ungesüßte Produkte (Gruppe a), deren Hauptbestandteil (60 %) Malzextrakt darstellt. Der Saccharosegehalt der beiden Präparate ist gering und auf den natürlichen Saccharosegehalt des Malzextraktes zurückzuführen. Die fettfreie Kakaomasse der beiden Präparate ist nahezu gleich (über 10 %). Die Verteilung der einzelnen Milchbestandteile dagegen ist ziemlich verschieden. Im Präparat Nr. 1, welches günstiger zu beurteilen ist, herrscht Vollmilchpulver vor, während im Präparat 2 bedeutend weniger Vollmilchpulver, dafür mehr Magermilchpulver enthalten ist. Auffallend sind die beträchtlichen Unterschiede im Ei gehalt. Präparat 1 enthält 3,6 % Trockenei, Präparat 2 nur 1,2 %. Die diastatische Kraft der beiden Präparate ist als normal zu beurteilen, wenn sie auch bei Nr. 1, dem in der ganzen Zusammensetzung wertvolleren Produkt, bedeutend höher ist.

b) Die Präparate 3 bis 7 sind gesüßte Produkte. Sie enthalten alle rund 20 % Rohrzucker. Die fettfreie Kakaomasse variiert von 8 bis 12 %. Die Unterschiede im Gehalt an Vollmilch- und Magermilchpulver sind beträchtlich. Nr. 5 enthält praktisch kein Vollmilchpulver, Nr. 6 bloss 3,6 %, während der Gehalt an Magermilchpulver stark überwiegt. Trotzdem wurde bei diesen Präparaten Vollmilch deklariert. Die Präparate 3, 4 und 7 enthalten 7—9 % Vollmilchpulver neben mehr oder weniger Magermilchpulver.

Tabelle 18

Analysen verschiedener

	Nr.	1	2	3	4
Gesamtprotein (6,25 N)		14,9	13,4	8,1	11,5
Roh-Casein		6,42	4,86	3,68	4,91
Rein-Casein		5,27	4,48	3,46	4,59
Fettfreie Milchtrockensubstanz (berechnet aus Rein-Casein)		16,2	13,8	10,6	14,1
Lösliche Kohlehydrate		69,4	72,0	82,4	74,0
Saccharose		1,8	2,6	22,3	24,1
Gesamtfett		7,65	6,50	5,03	6,05
Refraktionszahl des Fettes bei 40°		47,6	45,8	46,4	45,8
Buttersäurezahl		8,3	4,6	7,0	6,5
Milchfett im Gesamtfett (berechnet aus Buttersäurezahl)	‰	41,5	23,0	35,0	32,5
Milchfett im Gesamtfett (nach von Fellenberg)	‰	41,1	25,8	38,6	31,8
Milchfett im Mittel	‰	41,3	24,4	36,8	32,2
Milchfettgehalt im Präparat	‰	3,16	1,68	1,85	1,90
Eieröl	ca. ‰	1,4	0,5	0,3	0,4
Kakaobutter (Differenz)	‰	3,1	4,3	2,9	3,8
Vollmilchpulver (Milchfett×4)		12,8	6,8	7,6	7,6
Magermilchpulver		6,6	8,7	4,9	8,4
Theobromin		0,34	0,39	0,30	0,36
Fettfreie Kakaomasse (berechnet aus Theobromin)		10,6	12,2	9,4	11,2
Lecithin- und Phosphatid-P ₂ O ₅		53,6	28,6	17,5	23,0
Cholesterin	mg‰	97	45	32	45
Vollei (berechnet aus Lecithin-P ₂ O ₅)	‰	3,6	1,4	0,7	1,0
Vollei (berechnet aus Cholesterin)	‰	3,4	1,1	0,7	1,1
Rohfaser (nach Bellucci)	‰	0,75	0,96	0,9	0,86
Asche	‰	3,91	3,00	2,52	2,80
CaO		0,50	0,35	0,39	0,29
P ₂ O ₅		1,25	1,00	0,77	0,90
Diastatische Kraft in Lintner-Einheiten		42	23	6,3	27
<i>Ungefähr Zusammensetzung:</i>					
1. Vollmilchpulver (25 ‰ Milchfett)		12,8	6,8	7,6	7,6
2. Magermilchpulver		6,6	8,7	4,9	8,4
3. Kakao (fettfr. Kakaomasse+Kakaofett)		13,7	16,5	12,3	15,0
4. Rohrzucker		1,8	2,6	22,3	24,1
5. Malzextrakt und andere Zuckerarten (Differenz)		61,5	64,2	52,2	43,9
6. Gehalt an Trockenvollei	‰	3,6	1,2	0,7	1,0

diätetischer Nährmittel

5	6	7	8	9	10	11	12
8,8	10,7	10,2	14,4	13,9	10,2	11,9	5,36
3,22	5,60	5,74	9,17	9,54	3,70	2,21	0,78
3,16	4,90	4,33	8,91	9,22	3,41	1,89	0
9,7	15,1	13,3	27,4	28,4	10,5	5,8	0
81,3	79,0	77,5	68,8	69,7	71,2	57,8	93,8
22,0	18,0	20,7	28,6	28,6	49,2	47,5	11,1
2,40	3,96	5,61	8,18	7,47	5,68	9,12	2,17
48,3	48,1	47,2	48,3	44,5	48,8	47,8	53,2
1,2	4,7	8,35	3,6	15,6	7,2	0,85	1,6
6,0	23,5	41,7	18,0	78,0	36,7	4,2	8,0
4,2	—	—	—	74,2	34,5	2,5	—
5,1	—	—	—	76,1	34,1	3,4	—
0,11	0,93	2,34	1,47	5,69	2,00	0,31	0,17
—	0,9	1,8	0,3	0,4	0,4	0,4	1,4
2,3	2,1	1,5	6,4	1,4	3,3	8,4	0,6
0,4	3,6	9,2	6,0	22,8	8,0	1,2	0,8
9,4	12,4	2,3	22,9	11,3	3,5	4,9	0
0,285	0,254	0,255	0,26	0,196	0,37	0,98	—
8,9	8,0	8,0	8,1	6,1	11,6	30,6	—
7,7	32,9	60,0	21,2	21,6	18,2	52,1	24,7
15	62	103	49	49	42	57	81
0	2,1	4,5	0,8	0,8	0,6	2,5	2,2
0,3	2,4	4,3	0,8	1,2	1,0	1,0	3,5
0,8	0,68	0,70	0,87	0,63	1,25	2,21	0,25
2,05	2,47	2,30	3,96	3,15	2,46	4,54	1,17
0,26	0,32	0,29	0,61	0,58	0,27	0,72	0,07
0,68	0,72	0,71	1,01	0,97	0,72	1,55	0,42
28	0,3	0	9,4	10,4	14	0,9	1,1
0,4	3,6	9,2	6,0	22,8	8,0	1,2	0,8
9,4	12,4	2,3	22,9	11,3	3,5	4,9	0
11,2	10,1	9,5	14,5	7,5	14,9	39,0	0
22,0	18,0	20,7	28,6	28,6	49,2	47,5	11,1
56,8	53,7	53,9	27,2	28,8	23,5	6,3	85,1
0,2	2,2	4,4	0,8	1,0	0,9	1,1	3,0

Unseres Erachtens sollten Präparate, bei welchen Vollmilchpulver deklariert wird, mindestens 5 % davon enthalten. Die Menge des gleichzeitig verarbeiteten Magermilchpulvers sollte in keinem Fall überwiegen und ebenfalls deklariert sein.

Der Malzextraktgehalt der Präparate 3 bis 7 ist durchwegs ziemlich hoch (40—50 %). Die diastatische Kraft schwankt zwischen 0 und 28 *Lintner*-Einheiten. Werte unter 10 *Lintner*-Einheiten sind nach unseren Erfahrungen als ungenügend zu beurteilen.

Ziemlich gross sind die Unterschiede im Ei gehalt der verschiedenen Präparate. Nr. 5 enthält praktisch kein Ei. Der Ei gehalt der Präparate 2, 3 und 4, welcher nur 0,7 bis 1,2 % Trockenei ausmacht, ist ebenfalls als gering zu betrachten. Diese Zahlen werden etwas anschaulicher, wenn man die Anzahl der Eier berechnet, welche in einer grossen Originalpackung (zu 500 g) dieser Nährmittel enthalten sind. Ein mittlerer Ei-Inhalt von 50 g entspricht ca. 13 g Trockensubstanz. Aus diesem Verhältnis ergibt sich, dass in einer 500-g-Packung der betreffenden Nährmittel nur 1/4 bis höchstens 1/2 Ei-Inhalt enthalten ist. Dieser minime Ei gehalt steht in keinem Verhältnis zu den gelegentlich vielversprechenden Propaganda-Angaben. Als Vergleichsbasis für den Ei gehalt könnten die Eierteigwaren dienen. Nach Art. 164 der LV müssen zur Herstellung von Eierteigwaren auf 1 kg Griess mindestens 100 g Eierinhalt von Schalen- oder Gefrier eiern oder 30 g Trockenvollei verwendet werden. Dies entspricht einem Trocken ei gehalt von 2,6 bzw. 3,0 %. Vor dem Kriege waren die Anforderungen noch höher. Es wurden mindestens 150 g Eierinhalt auf 1 kg Griess entsprechend 3,9 % Trockenei verlangt. Diese Mindestanforderungen dürften auch an diätetische Nährmittel gestellt werden, sofern auf einen Ei gehalt hingewiesen wird. Das Präparat Nr. 1, eines der wertvollsten der untersuchten Produkte, enthält 3,6 % Trockenei und entspricht ungefähr dieser Anforderung. Präparat Nr. 7 weist sogar 4,4 % Trockenei auf.

c) Die Nährmittel Nr. 8 und Nr. 9 sind spezielle «Sport»-Präparate. Sie enthalten bedeutend mehr Milchbestandteile, etwas mehr Rohrzucker, dafür weniger Malzextrakt als die unter b) genannten Produkte. Nr. 9 ist günstiger zu beurteilen als Nr. 8, weil es grössere Mengen Vollmilchpulver (22,8 %) enthält, während im Präparat Nr. 8 Magermilchpulver vorherrschend ist. Auffallenderweise enthält das weniger günstig beurteilte Präparat Nr. 8 etwas mehr Gesamt fett als Nr. 9, während der Unterschied im Milchfettgehalt (1,47 % gegenüber 5,69 %) sehr auffallend ist. Um das Präparat Nr. 8 fettreicher erscheinen zu lassen und bei der Sinnenprüfung den Eindruck von Vollmilchpulver zu erwecken, ist ein grösserer Zusatz an Kakaobutter gemacht worden. Der Ei gehalt der «Sport»-Präparate Nr. 8 und 9 ist gering.

d) Die Präparate Nr. 10 und 11 fallen durch ihren hohen Gehalt an Rohrzucker auf. Sie enthalten spezielle Vitaminzusätze. Bei Nr. 10 werden u.a. Getreidekeimlinge und Kolanüsse deklariert. Auf einen besondern Zusatz von Ei

wird nicht hingewiesen. Durch den ziemlich hohen Lecithin- und Phytosterin-gehalt der Weizenkeimlinge kann ein gewisser Ei gehalt vorgetäuscht werden. Nr. 11 ist ebenfalls ein Vitaminpräparat. Es enthält zugesetztes Lecithin und die Vitamine B₁ und D. Auch hier wirken sich die Zusätze von Lecithin und Weizen-keimlingen störend auf die Berechnung des Ei gehaltes aus.

Nr. 12 ist ein ausländisches Präparat, welches laut Deklaration aus Malz-extrakt, Honig und 5 % Trockenei bestehen soll. Der Ei gehalt erreicht nach unseren Untersuchungen den deklarierten Wert nicht, und die Diastase dieses Präparates ist praktisch null.

Wie die Bilanz der Mineralbestandteile in Tabelle 15 ergeben hat, enthält nur das Präparat Nr. 11 einen Zusatz von ca. 2 % $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Beurteilung und Anforderungen

Auf Grund der Untersuchung verschiedener Handelspräparate und selbst hergestellter Modellmischungen können nachstehende Anforderungen und Beurteilungsnormen vorgeschlagen werden.

1. Der Gehalt an Malzextrakt sollte bei guten, ungezuckerten Präparaten mindestens 50 %, bei gezuckerten mindestens 30 % betragen.
2. Bei ungezuckerten Präparaten darf der Saccharosegehalt 5 % nicht übersteigen. Ein höherer Gehalt, welcher immer auf Zusatz von Saccharose hindeutet, ist ausdrücklich zu deklarieren. Gezuckerte Präparate enthalten in der Regel 20—25 % Saccharose. 30 % Saccharose dürften als obere Grenze festgelegt werden.
3. Die fettfreie Kakaomasse sollte mindestens 10 % betragen, weil bei geringeren Gehalten das Präparat zu hell ausfällt.
4. Der Gehalt an Vollmilchpulver sollte mindestens 5 % betragen. Neben Vollmilchpulver mit einem Fettgehalt von 25 % darf bei entsprechender Deklaration auch Magermilchpulver verarbeitet werden, jedoch sollte dessen Anteil nie grösser sein als die gleichzeitig verwendete Vollmilchpulvermenge.
5. Das Gesamtfett, bestehend aus Kakaobutter, Milchfett und Eieröl, sollte mindestens 5 % betragen, die Menge des Milchfettes mindestens 1,25 %.
6. Bei Deklaration eines Ei gehaltes oder bei Verwendung von Bezeichnungen, die auf einen Eierzusatz schliessen lassen, sollte das fertige Nährmittel mindestens 3—4 % Trockenvollei enthalten.
7. Die diastatische Kraft von Nährmitteln, welche auf der Basis von Malz-extrakt hergestellt wurden, sollte mindestens 15 Einheiten nach *Lindtner-Wirth* betragen.

Methodik

Alle bisher besprochenen oder ausgearbeiteten Methoden folgen hier in gedrängter Form als Arbeitsvorschriften.

Im untenstehenden Schema des Analysenganges (Tabelle 19) sind die verschiedenen Bestimmungen aufgeführt, und es wird gleichzeitig angegeben, welche Bestandteile des Nährmittels daraus berechnet werden können.

Tabelle 19
Schema des Analysenganges

Bestimmung	Dient zur Berechnung oder Beurteilung von
Kohlehydrate	
Lösliche Kohlehydrate nach LB	
Saccharose	Rohrzuckerzusatz
Rohfaser nach Bellucci	
Proteine	
Gesamtprotein nach Kjeldahl	
Roh-Casein; nach Abzug der Korrektur für die Eibestandteile	
Rein-Casein	fettfreier Milchtrockensubstanz
Gesamtfett darin:	
Halbmikro-Buttersäurezahl } Milchfett nach von Fellenberg } . . .	Milchfettgehalt bzw. Vollmilchpulver
Refraktionszahl	
Cholesterin } Lecithin-P ₂ O ₅ }	Ei
Theobromin	fettfreier Kakaomasse
Asche } CaO }	Nährsalzzusatz
P ₂ O ₅ }	
Diastatische Kraft	qualitative Beurteilung des Präparates

Bestimmung der löslichen Kohlehydrate

Man verfährt genau nach der Vorschrift des LB, S. 147.

Saccharosebestimmung nach Methode von Fellenberg

Prinzip

Durch eine Behandlung mit NaOH werden alle direkt reduzierenden Zuckerarten zerstört, Saccharose dagegen nicht angegriffen. Die Lösung wird neutralisiert, mit Bleiessig geklärt, im Filtrat die Saccharose mit HCl invertiert und der gebildete Invertzucker bestimmt.

Bei grösseren Saccharosegehalten über 10 % eignet sich die etwas abgeänderte Methode des LB gut.

150 cm³ des Filtrates, wie es für die Bestimmung der löslichen Kohlehydrate erhalten wird (entsprechend 3,0 g Nährmittel) werden in einem 200-cm³-Messkolben mit 4 g NaOH in Plätzchen versetzt und nach dem Auflösen während $\frac{5}{4}$ Stunden im siedenden Wasserbad erhitzt. Man kühlt ab und versetzt mit Eisessig (Tüpfeln auf Azolithminpapier) bis zur schwach sauren Reaktion. Nun werden 5 cm³ Bleiessig hinzugefügt, es wird bei Normaltemperatur bis zur Marke aufgefüllt, geschüttelt und durch ein trockenes Faltenfilter filtriert. Das klare Filtrat wird zur Ausfällung des Bleis mit 1 g sekundärem Natriumphosphat geschüttelt und filtriert. Vom klaren Filtrat werden 100 cm³ in einen 200-cm³-Messkolben gebracht und unter Zugabe von 1 Tropfen Methylorange mit 20-%iger Salzsäure versetzt, bis die Farbe deutlich nach rot umschlägt (nicht nur nach orangerot). Man fügt nun noch 2 cm³ n-Salzsäure hinzu, invertiert in einem Gefäss mit siedendem Wasser während 30 Minuten, kühlt ab, neutralisiert mit Natronlauge, bringt bei Normaltemperatur auf 200 cm³ und führt mit der Lösung die Invertzuckerbestimmung gravimetrisch mit 50 cm³ (0,375 g Nährmittel) aus (siehe Abschnitt «Zucker», S. 165).

Die Methode liefert bei grösseren Saccharosegehalten befriedigende Resultate, sie wird aber bei Mengen unter 10 % ungenau. In diesem Fall muss die Methode von *Kolthoff-Kruisheer*, welche bei jeder beliebigen Zuckermischung genaue Werte liefert, angewendet werden.

Saccharosebestimmung nach Kolthoff-Kruisheer

Prinzip

Die Methode beruht auf der Fructosebestimmung vor und nach Inversion. Die Differenz entspricht der Fructose, welche in der Saccharose gebunden war. Durch Jodlösung in alkalischer Milieo werden die Aldosen quantitativ oxydiert, Fructose aber nicht verändert. Nach dem Ansäuern und Entfernung des überschüssigen Jods mit Na₂SO₃ wird die Fructose mittels *Luff'scher* oder *Fehling'scher* Lösung bestimmt.

Reagenzien

4n-NaOH (16 g NaOH in 100 cm³)

n-Jodlösung, hergestellt durch Lösen von 13 g Jod und 15 g Kaliumjodid zu 100 cm³

2 g des Nährmittels werden in einem 100-cm³-Messkolben in warmem Wasser gelöst, mit je 1 cm³ *Carrez*-Lösung I und II versetzt, bei Normaltempe-

ratur bis zur Marke aufgefüllt und gemischt. Nun filtriert man durch ein trockenes Faltenfilter; die ersten 10 cm^3 Filtrat werden verworfen (Stammlösung).

10 cm^3 dieses Filtrates werden zur Fructosebestimmung vor Inversion verwendet, 50 cm^3 werden nach *Clerget* invertiert.

Inversion

Zur Inversion nach *Clerget* werden 50 cm^3 Filtrat in ein 100-cm^3 -Messkölbchen pipetiert, mit 6 cm^3 25 %iger HCl versetzt und in ein Wasserbad von 70° gestellt. Von dem Moment an, wo die Temperatur im Kölbchen 68° erreicht hat, wird noch während genau 10 Minuten bei $68\text{--}70^\circ$ invertiert. Man kühlt rasch ab, neutralisiert mit 4n-NaOH und Methylorange und füllt zur Marke auf.

Fructosebestimmung

Zur Fructosebestimmung verwendet man von der Stammlösung 10 cm^3 , von der invertierten Lösung 20 cm^3 , entsprechend je 200 mg Substanz. Die Lösungen werden in je ein 50-cm^3 -Messkölbchen abpipetiert. Nun macht man mit $2,5 \text{ cm}^3$ 4n-NaOH alkalisch und lässt rasch 8 cm^3 n-Jodlösung zufließen. Die Lösung soll gelbbraun gefärbt sein, andernfalls gibt man noch mehr Jodlösung zu. Nun lässt man 5—7 Minuten stehen und säuert mit 3 cm^3 2n-H₂SO₄ an. Der grösste Teil des Jodüberschusses wird zunächst durch portionenweises Zusetzen von festem Na₂SO₃ entfernt und schliesslich die letzten Reste mit einer verdünnten Na₂SO₃-Lösung unter Verwendung von 1 Tropfen Stärkelösung als Indikator genau titriert. Die Lösung wird nun mit 4n-NaOH neutralisiert und das Kölbchen zur Marke aufgefüllt. In 20 cm^3 dieser Lösung (entsprechend 80 mg Substanz) wird die Fructose nach *Hadorn* und *von Fellenberg*⁴²) bestimmt. Man kann das Reduktionsvermögen auch nach *Luff-Schoorl* bestimmen; diese Methode ist aber weniger genau, weil mit 0,1n- statt mit 0,02n-Lösungen, wie bei der erstgenannten Methode, titriert wird.

Berechnung

Nach Methode *Hadorn* und *von Fellenberg* entspricht:

$$1 \text{ cm}^3 \text{ 0,02n-J} = 0,775 \text{ mg Fructose.}$$

Der Jodverbrauch ist der Zuckermenge genau proportional. Bei der Methode *Luff-Schoorl*⁴¹) müssen die Fructosegehalte der angegebenen Tabelle entnommen werden.

Man berechnet zunächst den Fructosegehalt vor Inversion (Fr₁) und den Fructosegehalt nach Inversion (Fr₂) in Prozenten. (Die nach der Jodbehandlung zur Fructosebestimmung verwendeten 20 cm^3 Lösung entsprechen je 80 mg Substanz.)

Der Saccharosegehalt (S) des Präparates ist dann: $S = 1,9 \cdot (Fr_2 - Fr_1)$.

Caseinbestimmung

Prinzip

Durch Behandlung mit kalter Natriumoxalatlösung wird das Casein gelöst und durch Zentrifugieren von unlöslichen Bestandteilen getrennt. In einem aliquoten Teil der erhaltenen Lösung wird das Casein mit Uranacetat und Essigsäure gefällt, abzentrifugiert und schliesslich der N-Gehalt nach *Kjeldahl* bestimmt.

Reagenzien

1 %ige Natriumoxalatlösung

5 %ige Uranacetatlösung

30 %ige Essigsäure

Waschflüssigkeit: 5 g Uranacetat; 10 cm³ 30 %ige Essigsäure auf 500 cm³

Arbeitsvorschrift

In ein Zentrifugenglas mit eingeschliffenem Glasstopfen, wie es zur Fettbestimmung in Schokolade verwendet wird, bringt man 8 g Substanz. Mit Hilfe eines Glasstabes und ca. 10 cm³ Oxalatlösung wird die Masse zu einem homogenen, dünnen Brei angerührt. Man gibt nun noch weitere 40 cm³ Oxalatlösung zu, womit man den Glasstab abspült. Die Flüssigkeit wird gut durchgemischt und über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach 14—20 Stunden wird auszentrifugiert und die überstehende Lösung durch einen Wattebausch in einen 200-cm³-Messkolben filtriert. Der Rückstand im Zentrifugenglas wird mit 50 cm³ Natriumoxalatlösung gut durchgemischt, wiederum zentrifugiert und die Lösung ebenfalls in den Messkolben filtriert. Dieses Auswaschen erfolgt insgesamt 3 mal, der Messkolben wird nun auf 200 cm³ aufgefüllt und gut gemischt. Um die in der Regel braun gefärbte, trübe Lösung von feinen suspendierten Kakaoteilchen zu befreien, werden ca. 60 cm³ mit einer Messerspitze voll Kieselgur (0,3 g) geschüttelt und scharf zentrifugiert. Die überstehende Lösung wird vorsichtig abgegossen, davon 50 cm³ (entsprechend 2,0 g Substanz) in ein 100-cm³-Becherglas abpipettiert und kurz zum Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten setzt man 5 cm³ Uranacetatlösung zu und gibt unter beständigem Rühren 35 Tropfen 30 %ige Essigsäure zu. Das Casein fällt flockig aus und setzt sich gut ab. Man führt die Mischung in ein Zentrifugenglas über und zentrifugiert. Die überstehende Lösung wird weggegossen und der Niederschlag mittels eines Glasstabes und 50 cm³ Waschflüssigkeit gut aufgewirbelt und nochmals zentrifugiert. Das Auswaschen wird 2 mal mit je 50 cm³ Waschflüssigkeit wiederholt.

Zur Stickstoffbestimmung wird der ausgewaschene Niederschlag mit Wasser und insgesamt 7—8 cm³ konz. Schwefelsäure, die man portionenweise ins Zentrifugenglas gibt, quantitativ in einen *Kjeldahl*-Kolben übergeführt. (Man löst den stark wasserhaltigen Niederschlag zunächst in 2—3 cm³ konz. Schwefelsäure, wobei sich die Masse erwärmt.

Nach Zusatz von 1—2 g Kupfersulfat-Selen-Katalysator wird die organische Substanz in bekannter Weise verbrannt und der Stickstoffgehalt bestimmt.

Berechnung

Zur Berechnung des Roh-Caseins benutzt man den Faktor 6,3 N.

1 cm³ 0,1n-HCl entspricht = 8,965 mg Casein.

Bei Präparaten mit einem beträchtlichen Ei gehalt liefert die Methode zu hohe Werte. Vom gefundenen Roh-Casein sind für jedes Prozent Trockenei 0,32 % zu subtrahieren. Der so ermittelte Rein-Caseingehalt dient zur Berechnung der fettfreien Milchrockensubstanz.

$$\text{Fettfreie Milchrockensubstanz} = \frac{\text{Rein-Casein}}{0,325} \text{ \%}$$

Die Berechnung des Vollmilch- und des Magermilchpulvers wird durch die Beispiele in Tabelle 13 veranschaulicht (Erläuterungen siehe Text).

Bestimmung des Gesamtfettes

Prinzip

Das Nährmittel wird in warmem Wasser suspendiert, mit CuSO₄-Lösung versetzt, der Niederschlag abfiltriert, getrocknet, mit Na₂SO₄ vermischt und hierauf das Fett mit Äther extrahiert.

50 g Substanz werden in einem 600-cm³-Becherglas mit wenig kaltem Wasser zu einem gleichmässigen Brei angerührt und dann mit 500 cm³ ca. 80° warmem Leitungswasser verdünnt. Es wird solange umgerührt, bis keine Knöllchen mehr sichtbar sind. Dann wird auf Zimmertemperatur abgekühlt, 40 cm³ *Fehling*'sche Kupfersulfatlösung zugegeben, tüchtig durchgerührt und ca. 10 Minuten stehen gelassen. Nun filtriert man durch ein angefeuchtes Faltenfilter (Durchmesser ca. 24 cm) und wäscht solange mit gewöhnlichem Wasser aus, bis es ungefärbt abfliesst. Filter samt Inhalt werden am besten über Nacht an der Luft vorgetrocknet; später breitet man das Faltenfilter möglichst gleichmässig auf einem Teller aus und wartet, bis man die eingetrockneten Teile des Filterrückstandes leicht mit einem Spatel ablösen kann. Diese sammelt man in einem Mörser, versetzt mit 3—5 g wasserfreiem Natriumsulfat und verreibt das Ganze zu einem gleichmässigen trockenen Pulver. Das zurückbleibende Filter zerschneidet man in möglichst feine Streifchen und zerreibt dieselben ebenfalls mit etwas Natriumsulfat. Dann füllt man die Masse in ein genügend grosses Faltenfilter und extrahiert während 6 Stunden mit Äthyläther. Nach dem Abdestillieren des Äthers wird das so gewonnene Rohfett gewogen. Dieses wird hernach mit Petroläther aufgenommen, quantitativ in ein Zentrifugierrohr gespült, mit etwas Kieselgur versetzt und während 10 Minuten auszentrifugiert. Die vollständig klare Lösung giesst man in ein gewogenes Kölbchen ab, spült mit 5—10 cm³ Petroläther nach, destilliert ab, trocknet bei 100° und wiegt das reine Gesamtfett.

Bestimmung des Milchfettes

a) Aus der Halbmikro-Buttersäurezahl

Reagenzien

Alkoholische 0,5 n-Kalilauge

Glycerin ($d = 1,26$)

Schwefelsäure 25 Vol.-%

Gesättigte, wässrige Kaliumsulfatlösung (10 %)

Kokosnussfett-Seifenlösung:

50 g Kokosnussfett werden mit 50 g Glycerin, 15 g KOH und 20 cm³ Wasser in einem 1-Liter-Kolben über freier Flamme verseift. Nach dem Abkühlen unter 100° wird vorsichtig auf 500 cm³ verdünnt.

Wässrige 0,01n-Natronlauge

500 mg Fett werden in einem 50-cm³-Stehkölbchen mit 6 cm³ alkoholischer 0,5 n-Kalilauge auf der Heizplatte unter Beifügung eines Siedesteinchens zum Sieden erhitzt. Nachdem die Verseifung des Fettes sichtbar beendet ist, fügt man mittels einer Stabpipette mit weiter Auslauföffnung 1 cm³ Glycerin $d = 1,26$ hinzu und kocht weiter, bis der Alkohol grösstenteils verdampft ist, was aus dem auftretenden stärkeren Schäumen erkennbar ist. Zur Vertreibung der letzten Alkoholreste belässt man das Kölbchen in liegender Stellung 1 Stunde im Trockenschrank. Sofort nach dem Herausnehmen fügt man aus einer Pipette 15 cm³ der gesättigten Kaliumsulfatlösung hinzu und schüttelt solange kräftig, bis die eingetrocknete Seife sich in der zugefügten Lösung aufgelöst hat (meistens entsteht dabei eine gallertige Masse). Nach dem Abkühlen auf 20° setzt man nacheinander 0,5 cm³ verdünnte Schwefelsäure, 1 cm³ Kokosnuss-Seifenlösung und etwa 0,1 g Kieselgur hinzu, verschließt das Kölbchen und schüttelt solange durch, bis alle Seife zersetzt ist. Dann filtriert man durch ein 9-cm-Rundfilter in ein geeichtes Messgläschen *) von 12,5 cm³, bis die Marke erreicht ist. Das Filtrat giesst man in ein 100-cm³-Stehkölbchen und spült das Röhrchen mit 5 cm³ Wasser nach. Nach Zugabe von etwas Bimssteinpulver destilliert man, nachdem das Kölbchen mit einem dem RMZ-Aufsatz nachgebildeten, verkleinerten Aufsatze versehen wurde, mittels eines kleinen, senkrecht stehenden Kühlers (nach Zäch ²⁰) 11 cm³ in das entsprechende Messgläschen*) ab. Nach Überführen des Destillates in ein 50-cm³-Erlenmeyerkölbchen titriert man unter Verwendung von 1—2 Tropfen einer 1%igen Phenolphthaleinlösung bis zur bleibenden Rotfärbung mit 0,01n-NaOH, spült das Vorlageröhrchen mit der Titrationsflüssigkeit aus und titriert nochmals bis zur schwachen Rötung.

Vom Titrationswert wird der Verbrauch an 0,01n-NaOH für einen Blindversuch mit 500 mg Kakaofett abgezogen. Die Differenz, mit dem Faktor 1,40 multipliziert, ergibt die Buttersäurezahl.

*) Die 2 hier benötigten graduierten Röhrchen können von jedem Glasbläser hergestellt werden. Abbildung siehe Handbuch Bd. IV, S. 88.

‰ Milchfett im Gesamtfett = 5 . Buttersäurezahl.

Betrug die Einwaage nicht genau 500 mg, so kann die Buttersäurezahl aus Tabelle 33 des Handbuches abgelesen werden.

b) Aus der Halbmikromethode zur Bestimmung des Butterfettgehaltes nach von Fellenberg

Die Bestimmung wird genau nach den von Fellenberg'schen Angaben¹⁹⁾ durchgeführt.

Cholesterinbestimmung

Prinzip

Aus einem Teil des Reinfettes wird eine Stammlösung in Essigester bereitet. Ein aliquoter Teil dieser Lösung wird zur Farbreaktion mit Essigsäureanhydrid, Essigester und Schwefelsäure verwendet. Gleichzeitig wird eine Blindprobe mit der gleichen Menge Stammlösung, aber ohne Essigsäureanhydrid angesetzt. In einem Photometer wird die Extinktion der Hauptlösung gegen die Blindprobe gemessen und der Cholesteringehalt einer Eichkurve entnommen.

Reagenzien

Essigester, wasserfrei

Essigsäureanhydrid

Konz. Schwefelsäure

Das von der Milchfettbestimmung übriggebliebene Reinfett wird gewogen. Man berechnet, welcher Menge ursprünglicher Substanz es entspricht, löst das Fett in Essigester und spült es quantitativ in ein Messkolbchen von 25 oder 50 cm³ und füllt bei 20° zur Marke auf. 1 cm³ dieser Stammlösung soll 0,5 bis 1,5 g ursprünglicher Substanz entsprechen. Zur Farbreaktion wird in der Regel 1 cm³ dieser Stammlösung verwendet. Bei geringen Cholesteringehalten nimmt man 2 cm³, eventuell noch mehr Stammlösung. In einem Ansatz sollen 0,1 bis höchstens 1,0 mg Cholesterin zur Anwendung gelangen. Gleichzeitig mit dem Hauptversuch wird eine Blindprobe ohne Essigsäureanhydrid mit der gleichen Menge Stammlösung angesetzt.

Hauptversuch

In einem mit Glasstopfen versehenen Zylinder mischt *) man 9 cm³ Essigester, 4 cm³ Essigsäureanhydrid, 0,8 cm³ konz. Schwefelsäure und kühlt die Reagenslösung durch Einstellen in ein Wasserbad von 20°. Nach genau 10 Minuten gibt man 1 cm³ Stammlösung zu, mischt gut durch und stellt den Zylinder wieder in das Wasserbad.

*) Zum genauen Abmessen der Reagenzien benutzt man am zweckmäßigsten Büretten.

Blindversuch

Gleichzeitig werden in einem zweiten Zylinder 13 cm³ Essigester und 0,8 cm³ konz. Schwefelsäure gemischt und im Wasserbad von 20° gekühlt. Nach 10 Minuten gibt man ebenfalls 1 cm³ Stammlösung zu, mischt und stellt wieder in das Wasserbad.

Bei geringem Cholesteringehalt (der Stammlösung) werden 2 cm³, eventuell noch mehr Stammlösung zugesetzt. Dafür wird jedoch zur Herstellung der Reagenslösung die Menge Essigester entsprechend reduziert. Das fertige Reaktionsgemisch soll in jedem Fall 10 cm³ Essigester, 4 cm³ Essigsäureanhydrid und 0,8 cm³ konz. Schwefelsäure enthalten. Die Blindprobe 14 cm³ Essigester und 0,8 cm³ konz. Schwefelsäure.

Die Färbung der Reaktionsmischung nimmt allmählich zu, erreicht nach ungefähr einer Stunde das Maximum und verblasst allmählich wieder. Um das Maximum der Lichtabsorption, welches nicht immer genau nach der gleichen Zeit erreicht wird, festzustellen, ist es notwendig, die Lösungen in Abständen von ca. 10 Minuten immer wieder zu messen (1. Messung nach ca. 30 Minuten).

Man füllt die beiden Lösungen in Glasküvetten (Schichtdicke 20—30 mm), schaltet sie in den Strahlengang eines Photometers und misst die Lichtabsorption unter Verwendung eines Rotfilters (beim *Pulfrich*-Photometer Filter S 61). Der Cholesteringehalt wird in einer Eichkurve abgelesen.

Die *Eichkurve* wird unter gleichen Bedingungen mittels steigender Mengen (0,1—1,0 cm³) einer Lösung von 100 mg reinem Cholesterin in 100 cm³ Essigester aufgenommen.

Beispiel

Aus 50 g Substanz wurden 1,980 g Reinfett (= 3,96 %) erhalten. Für die Cholesterinbestimmung wurden 0,9436 Reinfett (entspricht 23,8 g ursprünglicher Substanz) in Essigester gelöst und auf 50 cm³ verdünnt.

1 cm ³ dieser Stammlösung entspricht	0,477 g Substanz.
2 cm ³ dieser Stammlösung entsprechen	0,954 g Substanz.

Bei der kolorimetrischen Messung wurde gefunden:

bei Verwendung von 1 cm ³ Stammlösung	= 0,290 mg Cholesterin.
(entsprechend 0,477 g Substanz)	

In der ursprünglichen Substanz sind somit	61 mg %.
---	----------

In einem Parallelversuch mit 2 cm ³ Stammlösung	
(entsprechend 0,954 g Substanz) wurden gefunden	0,595 mg Cholesterin.

In der ursprünglichen Substanz	= 62 mg %.
--------------------------------	------------

Berechnung des Eigelthaltes aus dem Cholesterin

Volleipulver enthält im Mittel 2,1 % Cholesterin. Am ermittelten Cholesteringehalt des Nährmittels müssen zunächst Korrekturen für den Steringehalt des Kakao und Milchfettes angebracht werden.

Im Mittel enthält Kakaofett = 0,40 % Phytosterin
und Milchfett = 0,30 % Cholesterin.

Vom Cholesteringehalt des Nährmittels, ausgedrückt in mg%, subtrahiert man für jedes Prozent Kakaofett 4 mg% und für jedes Prozent Milchfett 3 mg% Cholesterin. Die Differenz = korrigierter Cholesteringehalt, entspricht dem Cholesterin, welches aus dem Ei stammt.

$$\% \text{ Trockenvollei} = \frac{\text{korr. Cholesteringehalt in mg\%}}{21}$$

Beispiel (Nährmittel Nr. 4)

Kakaofett im Nährmittel	=	3,8 %
Milchfett im Nährmittel	=	1,9 %
Cholesterin im Nährmittel	=	45 mg%
Korrektur für Kakaofett = $4 \times 3,8$	=	-15,2 mg%
Korrektur für Milchfett = $3 \times 1,9$	=	-5,7 mg%
Cholesterin korrigiert	=	24,1 mg%
$\% \text{ Trockenvollei} = \frac{24,1}{21}$	=	1,1 %

Weitere Beispiele sind in Tabelle 8 aufgeführt.

Bestimmung der Lecithin-Phosphorsäure

Prinzip

Die Substanz wird in Wasser suspendiert, mit CuSO₄-Lösung versetzt, der Niederschlag abfiltriert und getrocknet. Zucker und anorganische Salze werden durch diese Behandlung weitgehend entfernt. Der mit Na₂SO₄ verriebene Niederschlag wird mit absolutem Alkohol extrahiert und die alkohollösliche Phosphorsäure bestimmt.

10 g Substanz werden in ungefähr 200 cm³ 40—50° warmem Leitungswasser gut suspendiert und abgekühlt. Sodann werden 12 cm³ *Fehling*'sche Kupferlösung beigefügt. Nach kurzem Umrühren wird etwas stehen gelassen, durch ein Faltenfilter filtriert, der Niederschlag quantitativ aufs Filter gebracht und 2—3 mal mit kaltem Wasser nachgewaschen. Ist alles Lösliche (Zucker, Mineralsalze usw.) entfernt, wird das feuchte Filter ausgebreitet und bei gewöhnlicher Temperatur, am besten über Nacht, trocknen gelassen. Meistens trocknet die zurückbleibende Masse rippenähnlich aus und kann leicht mit einem Spatel abgehoben werden. In diesem Fall wird die Masse in eine Reibschale gebracht und mit wasserfreiem

Na_2SO_4 fein zerrieben, bis das Ganze ein gleichmässiges Aussehen erreicht hat. Nachher füllt man den Schaleninhalt wieder in das gleiche Faltenfilter ein, wischt Reibschale und Pistill gut mit Watte ab und gibt diese schliesslich ebenfalls oben in das Faltenfilter. Ist nur wenig Wasserunlösliches zugegen, so trocknet der Rückstand so fest am Faltenfilter an, dass er nicht mehr leicht abgelöst werden kann. In diesem Falle zerschneidet man das Filter in möglichst kleine Streifen und verreibt diese mit Na_2SO_4 möglichst gut. Darnach füllt man das Ganze in ein neues Faltenfilter und extrahiert im Extraktionsapparat von *Pritzker* und *Jungkunz* mit absolutem Alkohol während 8 Stunden.

Der alkoholische Auszug, welcher alle Phosphatide enthält, wird mit 2 cm^3 alkoholischer 0,5n-KOH versetzt; dann destilliert man den Alkohol ab und spült den Rückstand mit Wasser quantitativ in eine Platinschale. Auf einem Wasserbad wird zur Trockne eingedampft und der Rückstand vorsichtig verascht. Wenn die Hauptmenge der organischen Substanz verbrannt ist, laugt man die Kohle mit 5—10 cm^3 Wasser aus, filtriert durch ein aschenfreies Filter, bringt Filter samt Rückstand in die Platinschale zurück, trocknet und verascht. Den Rückstand löst man in wenig Wasser und 1 cm^3 konz. Schwefelsäure, vereinigt ihn mit dem ersten wässerigen Auszug und verdünnt in einem Messkölbchen auf 50 cm^3 .

a) Kolorimetrische P_2O_5 -Bestimmung nach *Wuhrmann* und *Högl*⁴⁷⁾

1,0 cm^3 dieser Stammlösung *), entsprechend 0,2 g Einwaage, werden in einem Reagensglas der Reihe nach mit

7,0 cm^3 Wasser

0,5 cm^3 H_2SO_4 1+4

1,0 cm^3 5 %-iger Ammonmolybdatlösung

0,5 cm^3 Photo-Rex-Reagens

versetzt, gut gemischt und nach 30 Minuten langem Stehen bei 20° gegen eine Blindprobe im *Pulfrich*-Photometer oder im lichtelektrischen Kolorimeter kolorimetriert. Der P_2O_5 -Gehalt wird aus einer entsprechenden Eichkurve entnommen.

b) Gravimetrische P_2O_5 -Bestimmung

Die gravimetrische Bestimmung erfolgt nach der Vorschrift des Lebensmittelbuches. Ein aliquoter Teil der Stammlösung, entweder 20 oder 40 cm^3 , entsprechend 4,0 bzw. 8,0 g Einwaage, wird mit 1 cm^3 konz. H_2SO_4 und 5 cm^3 konz. HNO_3 versetzt und mit Wasser in einem Becherglas auf 50 cm^3 verdünnt. Man kocht auf, gibt vorschriftsgemäss 50 cm^3 Molybdänreagens zu, lässt über Nacht stehen, filtriert und bestimmt das Gewicht des Niederschlages

*) Bei hohem Lecithin- P_2O_5 -Gehalt des Präparates werden nur 0,5 cm^3 Stammlösung verwendet und dafür 7,5 cm^3 Wasser zugesetzt. Das Volumen der fertigen Reaktionsmischung muss immer 10 cm^3 betragen.

1 Teil dieses Ammonium - phosphormolybdat - Niederschlages entspricht 0,03314 Teilen Lecithin-P₂O₅.

Berechnung des Eigelthaltes

Volleipulver enthält im Mittel 1,2 % Lecithin-P₂O₅. Am ermittelten Lecithin-P₂O₅-Gehalt des Nährmittels müssen zunächst Korrekturen für den Phosphatidgehalt der Kakaomasse und des Milchpulvers angebracht werden.

Im Mittel enthält fettfreie Kakaomasse	74 mg ^{0/0} Phosphatid-P ₂ O ₅
Milchpulver	20 mg ^{0/0} Phosphatid-P ₂ O ₅

Vom Lecithin-P₂O₅-Gehalt des Nährmittels, ausgedrückt in mg^{0/0}, subtrahiert man für jedes Prozent fettfreie Kakaomasse 0,74 mg^{0/0} und für jedes Prozent Milchpulver 0,2 mg^{0/0}. Die Differenz = korrigierter Lecithin-P₂O₅-Gehalt, entspricht der Lecithin-Phosphorsäure, welche aus dem Ei stammt.

$$\text{0/0 Trockenei} = \frac{\text{korr. Lecithin-P}_2\text{O}_5\text{-Gehalt in mg}^0\text{/0}}{12}$$

Diese Berechnung ist in Tabelle 8 für zahlreiche Präparate durchgeführt worden.

Bestimmung des Theobromins nach Pritzker und Jungkunz ³⁷⁾

15 g Substanz werden mit 3 g MgO vermischt und in einen Stehkolben mit genau 200 cm³ Wasser übergossen und gewogen. Man erhitzt vorsichtig zum Sieden und erhält mindestens 5 Minuten im Kochen. Nach dem Abkühlen wird gewogen, das verdampfte Wasser ersetzt, tüchtig geschüttelt und durch ein trockenes Faltenfilter filtriert. 80 cm³ des Filtrats = 6,0 g Substanz werden in einem mit Chloroform beschickten Perforator nach Pritzker und Jungkunz gebracht und perforiert. Nach 8 Stunden wird das Kölbchen vom Perforator abgenommen, das Chloroform auf dem Wasserbad abdestilliert und das zurückbleibende Roh-Theobromin bei 105° getrocknet und gewogen.

Der Rückstand wird mit etwas Wasser und 3 cm³ konz. Schwefelsäure aufgenommen und quantitativ in ein *Kjeldahl*-Kölbchen übergeführt. Nach Zusatz von etwas Kupfersulfat-Selen-Katalysator wird in bekannter Weise verbrannt und der N-Gehalt bestimmt.

1 cm³ 0,1n-HCl = 4,50 mg Theobromin (3,7 Dimethyl-xanthin C₇H₈O₂N₄ Molekulargewicht = 180,1).

$$\text{Fettfreie Kakaomasse} = \frac{\text{Rein-Theobromin}}{0,032}$$

Die Bestimmung der Gesamtasche, des Kalkes und der Phosphorsäure

Die Kalkbestimmung wird in Verbindung mit der Bestimmung der Gesamtasche ausgeführt. Für die Phosphorsäurebestimmung muss wiederum eine weitere Veraschung vorgenommen werden, so dass man in diesem Falle von vornehmlich einer doppelten Veraschung ausführt, womit gleichzeitig eine Kontrolle der Aschenbestimmungen gewonnen wird.

Gesamtaschenbestimmung

Je 5 g Substanz werden wie üblich in einer Platinschale unter Auslaugung mit Wasser verascht, was ohne besondere Schwierigkeiten gelingt.

Kalkbestimmung

Diese erfolgte in Anlehnung an eine entsprechende Vorschrift von Grossfeld⁴⁵⁾ gravimetrisch.

Reagenzien

Phosphorsäure (250 g sirupöse Säure im Liter)

Ammoniumoxalatlösung (20 g krist. Ammoniumoxalat im Liter)

Natronlauge (100 g festes Ätznatron im Liter)

Die Asche wird nach erfolgter Wägung mit genau 5 cm³ Phosphorsäure übergossen und mit einem Glasstäbchen umgerührt, wobei die vorhandenen Kalkverbindungen in Lösung gehen. Man filtriert den Schaleninhalt durch ein Rundfilter von 6 cm Durchmesser und wäscht aus. Dann gibt man 5 cm³ Ammoniumoxalatlösung und unter Umrühren 5 cm³ Natronlauge zu.

Man deckt mit einem Uhrglas, lässt 4—6 Stunden stehen und filtriert schliesslich durch ein gewogenes Allihn'sches Röhrchen. Nach dem Auswaschen trocknet man 1 Stunde im Trockenschrank bei 105° und wägt als CaC₂O₄ H₂O. Selbstverständlich kann die CaO-Bestimmung auch titrimetrisch durch Titration mit 0,1n-Kaliumpermanganat vorgenommen werden. Berechnung als % CaO in der ursprünglichen Substanz.

Phosphorsäurebestimmung

Der von der zweiten Aschenbestimmung herrührende Schaleninhalt wird mit Wasser angefeuchtet, mit 2 cm³ konz. Schwefelsäure versetzt und in ein 50-cm³-Messkölbchen gespült, bei Zimmertemperatur zur Marke aufgefüllt und filtriert.

In einem aliquoten Teil des Filtrates (je nach P₂O₅-Gehalt 10—40 cm³) wird nach der im Abschnitt Teigwaren des LB angegebenen Arbeitsweise die P₂O₅ bestimmt.

Bestimmung der diastatischen Kraft

Prinzip

Man lässt eine wässrige Suspension des Nährmittels während 30 Minuten auf eine gepufferte Stärkelösung einwirken und bestimmt die aus der Stärke gebildete Zuckermenge. Zur Sistierung der Fermentreaktion dient HgCl_2 .

Reagenzien

Quecksilberchloridlösung: 1 g HgCl_2 gelöst in 100 cm³

Natriumsulfidlösung: 2 g $\text{Na}_2\text{S} + 9 \text{H}_2\text{O}$ gelöst in 100 cm³

Fehling'sche Lösung I und II nach Lebensmittelbuch IV S. 165

Stärkelösung: frisch bereitete 2 %ige Lösung von löslicher Stärke (Marke: Noredux-Standard-Stärke, Siegfried)

Haltbarkeit 24 Stunden

Acetatpuffer vom pH = 4,3:

50 cm³ einer 0,5 n-Natriumacetatlösung (3,40 g Natriumacetat krist. in 50 cm³) und 100 cm³ 0,5 n-Essigsäure werden miteinander vermischt.

Ausführung

Unmittelbar vor der Bestimmung wird eine Stammlösung bereitet, indem 5 g des diätetischen Mittels in einem 100-cm³-Messkolben in dest. Wasser kalt gelöst werden. Man mischt gut durch, wobei der Malzextrakt in Lösung geht, und lässt die unlöslichen Bestandteile (Kakao, Ei und Milchbestandteile) absitzen. In 2 Messkolben zu 100 cm³ werden je 50 cm³ Stärkelösung und je 2,5 cm³ Pufferlösung gegeben und die Kolben während 15 Minuten in ein Wasserbad von 20° gestellt. In eines der Kölbchen lässt man mittels einer Pipette 5 cm³ der überstehenden trüben Stammlösung fliessen (Hauptversuch). Bei Präparaten mit geringer diastatischer Kraft (unter 30 *Lintner-Einheiten*) gibt man 10 cm³ Stammlösung zu, schüttelt um und stellt es mit dem unbeschickten Kölbchen erneut während 30 Minuten ins Wasserbad bei genau 20°. Zur Unterbrechung der Amylasewirkung setzt man nach Ablauf dieser Zeit zu beiden Kölbchen 2,5 cm³ Quecksilberchloridlösung und mischt gut durch. In den anderen Kölbchen (Blindversuch) gibt man jetzt ebenfalls 5 cm³ (bzw. 10 cm³) der 5 %igen Stammlösung. Zu beiden Kölbchen fügt man nacheinander unter gutem Umschwenken je 2,5 cm³ Natriumsulfidlösung und 4 cm³ *Fehling'sche* Kupferlösung, füllt mit Wasser bis zur Marke auf und filtriert durch ein trockenes Faltenfilter. Die ersten 10 cm³ des Filtrates werden verworfen. In beiden Filtraten wird anschliessend der reduzierende Zucker entweder gravimetrisch oder titrimetrisch bestimmt.

Gravimetrische Zuckerbestimmung

25 cm³ *Fehling I* und 25 cm³ *Fehling II* + 25 cm³ Wasser werden in einer Porzellankassarole zum Sieden erhitzt, 25 cm³ Filtrat zugegeben und nach Wiederbeginn des Siedens 4 Minuten weiter erhitzt. Berechnung des Zuckers als wasserfreie Maltose (Tabelle 3, Lebensmittelbuch 3. Auflage S. 391).

Titrimetrische Zuckerbestimmung nach Hadorn und von Fellenberg⁴²⁾

Diese Methode ist für Serienuntersuchungen besser geeignet, weil mehrere Bestimmungen nebeneinander ausgeführt werden können. In geräumige Reagensgläser (20/160 mm) gibt man 15 cm³ Wasser, 5 cm³ frisch bereitete *Fehling*-Mischung, dann 5 cm³ Filtrat, mischt gut durch und stellt die Gläser in ein siedendes Wasserbad. Das Wasser soll mindestens so hoch stehen, wie die Flüssigkeit im Reagensglas. Vom Wiederbeginn des Siedens wird noch 5 Minuten weiter erhitzt. Die Gläser werden nun in kaltem Wasser gekühlt, das Cu₂O auszentrifugiert und jodometrisch bestimmt.

Die Berechnung erfolgt als wasserfreie Maltose.

1 cm³ 0,02 n-Jod entspricht 1,14 mg wasserfreier Maltose.

Aus der Differenz zwischen der Maltose im Hauptversuch und der Maltose im Blindversuch wird die diastatische Kraft berechnet.

Die Menge Maltose in g, welche unter den gegebenen Versuchsbedingungen von 100 g des diätetischen Mittels gebildet wird, ergibt die diastatische Kraft in *Lintner*-Einheiten.

Beispiel (Nährmittel Nr. 1)

Beim Hauptversuch wie auch beim Blindversuch wurden 5 cm³ Stammlösung (entsprechend 250 mg Substanz) zur Stärke-Puffermischung zugesetzt und nach der Klärung auf 100 cm³ verdünnt. In je 5 cm³ Filtrat (entsprechend 12,5 mg Substanz) wurde die Zuckerbestimmung jodometrisch durchgeführt.

Bei der Titration wurden verbraucht:

Hauptversuch = 12,96 cm³ 0,02 n-Jod = 14,78 mg Maltose

Blindversuch = 8,40 cm³ 0,02 n-Jod = 9,58 mg Maltose

Differenz (entspricht der aus Stärke gebildeten Maltose) = 4,56 cm³ 0,02 n-Jod = 5,20 mg Maltose

12,5 mg Substanz haben unter den gegebenen Versuchsbedingungen die Bildung von 5,20 mg Maltose verursacht.

100 g Substanz bilden demnach $\frac{100 \cdot 5,2}{12,5} = 41,6$ g Maltose.

Die diastatische Kraft beträgt somit = 41,6 *Lintner*-Einheiten.

Zusammenfassung

1. Es wird ein Analysengang vorgeschlagen für die Untersuchung diätetischer Nährmittel, welche auf der Basis von Malzextrakt, Kakao, Zucker, Milch und Eiern hergestellt sind.
2. 12 verschiedene Handelspräparate und 2 selbst hergestellte Modellmischungen werden untersucht, die Resultate besprochen und die Nährmittel nach ihrer Zusammensetzung in Gruppen eingeteilt.
3. Auf Grund der in vorliegender Arbeit gesammelten Erkenntnisse werden Vorschläge zur Beurteilung diätetischer Nährmittel aufgestellt, welche die in Art. 181, Abs. 2 der LV erwähnten Hinweise ergänzen dürften.

Résumé

1. On propose un mode opératoire pour l'examen de produits alimentaires diététiques préparés à partir d'extrait de malt, de cacao, de sucre, de lait et d'œufs.
2. 12 produits commerciaux différents et 2 mélanges préparés comme modèles par les auteurs ont été analysés. Les résultats des analyses sont discutés et les produits alimentaires en question sont répartis en groupes suivant leur composition.
3. En se basant sur les résultats du présent travail on a établi des propositions pour l'appréciation des produits alimentaires diététiques, lesquelles permettraient de compléter les indications mentionnées à l'article 181, 2e al. de l'ordonnance fédérale réglant le commerce des denrées alimentaires.

Literatur

- ¹⁾ *Th. von Fellenberg*, diese Mitt. **3**, 327 (1912), siehe Schweiz. Lebensmittelbuch IV. Auflage, S. 148 (1937).
- ²⁾ *Th. von Fellenberg*, diese Mitt. **28**, 141 (1937).
- ³⁾ *H. Thaler*, Z.U.L. **80**, 439 (1940).
- ⁴⁾ *Clerget*, Ann. chim. phys. **26**, 175 (1849).
- ⁵⁾ *C. I. Kruisheer*, Z.U.L. **58**, 261 (1929).
- ⁶⁾ *J. M. Kolthoff*, Z.U.L. **45**, 141 (1923).
- ⁷⁾ *Laxa*, Z.U.L. **7**, 471 (1904).
- ⁸⁾ *E. Baier* und *P. Neumann*, Z.U.L. **18**, 13 (1909).
- ⁹⁾ *F. Härtel* und *F. Jaeger*, Z.U.L. **44**, 291 (1922).
- ¹⁰⁾ *J. König*, Chemie der menschlichen Nahrungs- und Genussmittel, Nachtrag zu Bd. I B, S. 1155 (1923).
H. Jaeger und *H. Eggers*, Ztschr. f. öffentl. Chemie **28**, 201 (1922).
- ¹¹⁾ *Ch. Arragon*, Pharm. Acta Helv. **13**, 154 (1938).
- ¹²⁾ *J. Grossfeld*, Z.U.L. **79**, 117 (1940).
- ¹³⁾ *J. Grossfeld*, Z.U.L. **49**, 313 (1925).

- ¹⁴⁾ *H. Lührig*, Pharm. Zentralhalle **63**, 227 (1922).
¹⁵⁾ *J. Grossfeld*, Z.U.L. **54**, 352 (1927).
¹⁶⁾ *J. Grossfeld*, Z.U.L. **64**, 433 (1932).
¹⁷⁾ *J. Grossfeld*, Z.U.L. **70**, 459 (1935).
¹⁸⁾ *J. Grossfeld*, Z.U.L. **76**, 340 (1938).
¹⁹⁾ *Th. von Fellenberg*, diese Mitt. **27**, 133 (1936), Methodik S. 155.
²⁰⁾ *C. Zäch*, diese Mitt. **22**, 89 (1931).
²¹⁾ Handbuch der Lebensmittel-Chemie Bd. IV, S. 88 (Berlin 1939).
²²⁾ *H. Riffart* und *H. Keller*, Z.U.L. **68**, 114 (1934).
²³⁾ *J. Tillmans*, *H. Riffart* und *A. Kühn*, Z.U.L. **60**, 371 (1930).
²⁴⁾ *J. König*, Chemie der menschlichen Nahrungs- und Genussmittel, Nachtrag zu Bd. I A, S. 446; ebenda S. 339/40 (Berlin 1919).
²⁵⁾ Handbuch der Lebensmittel-Chemie Bd. IV S. 443 (Berlin 1939).
²⁶⁾ *A. Grün*, Analyse der Fette und Wachse Bd. II S. 291 (1929).
²⁷⁾ *Ch. Arragon*, Z.U.L. **12**, 456 (1906).
²⁸⁾ *B. Alberti*, Chem. Ztg. **46**, 454 (1936).
²⁹⁾ *J. Grossfeld*, Handbuch der Eierkunde, Verlag J. Springer, Berlin, S. 240 (1938).
³⁰⁾ *R. Viollier*, diese Mitt. **28**, 23 (1937).
³¹⁾ *Br. Rewald*, Office Internat. d. Fabricants de Chocolat et de Cacao (1931), zitiert nach Handbuch.
³²⁾ *Winkler* und *Sale*, Journ. Assoc. official agricult. Chemists 537 (1931).
³³⁾ *F. E. Nottbohm* und *F. Mayer*, Z.U.L. **65**, 55 (1933).
³⁴⁾ Handbuch der Lebensmittel-Chemie Bd. III S. 67.
³⁵⁾ *J. König*, Chemie der menschlichen Nahrungs- und Genussmittel 5. Aufl. Bd. II S. 169 (1920).
³⁶⁾ *Br. Rewald*, Lait **17**, 225 (1937), zitiert nach Handbuch.
³⁷⁾ *J. Pritzker* und *R. Jungkunz*, diese Mitt. **34**, 185 (1943).
³⁸⁾ *H. Hadorn*, diese Mitt. **36**, 386 (1945).
³⁹⁾ *J. König*, Chemie der menschlichen Nahrungs- und Genussmittel Bd. III, 2. Teil, S. 238 (1914).
⁴⁰⁾ *A. Auzinger*, Z.U.L. **19**, 72 (1910) vgl. Schweiz. Lebensmittelbuch IV S. 161.
⁴¹⁾ *N. Schoorl*, Z.U.L. **57**, 575 (1929).
⁴²⁾ *H. Hadorn* und *Th. von Fellenberg*, diese Mitt. **36**, 359 (1945).
⁴³⁾ *F. Th. van Voorst*, A Reductometric and Biochemical System for Analysis of Sugar Mixtures, International Congress on Analytical Chemistry at Utrecht (Netherlands), June 1 — 3, 1948, Section V; siehe Chem. Weekblad **35 — 40** (1938—1940).
⁴⁴⁾ Schweiz. Lebensmittelbuch IV S. 122, vgl. *Th. von Fellenberg*, diese Mitt. **25**, 316 (1934).
⁴⁵⁾ *J. Grossfeld*, Z.U.L. **44**, 243 (1922).
⁴⁶⁾ *J. Pritzker* und *R. Jungkunz*, diese Mitt. **30**, 262 (1939).
⁴⁷⁾ *H. Wührmann* und *O. Högl*, diese Mitt. **35**, 273 (1944).