Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und

Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 46 (1955)

Heft: 4

Artikel: Zur Untersuchung diätetischer Nährmittel. 4. Mitteilung, Über die

Anwendung der komplexometrischen Zuckerbestimmung nach Potterat-

Eschmann auf die biochemische Zuckertrennung nach van Voorst

Autor: Hadorn, H. / Suter, H.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-983102

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: 13.12.2025

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

Zur Untersuchung diätetischer Nährmittel

4. Mitteilung

Über die Anwendung der komplexometrischen Zuckerbestimmung nach Potterat-Eschmann auf die biochemische Zuckertrennung nach van Voorst

Von *H. Hadorn* und *H. Suter* (Laboratorium VSK Basel)

Einleitung

Die komplexometrische Zuckerbestimmung nach Potterat-Eschmann 1) 2) 3) weist gegenüber den anderen gebräuchlichen Zuckerbestimmungsmethoden, wie beispielsweise nach Fehling, 4) Munson-Walker, 5) Hadorn und von Fellenberg 6) oder Luff-Schoorl 7) grosse Vorteile auf: Die Kupfer-Komplexon-Reagenslösung, welche gut haltbar ist und stets genau die gleichen Eigenschaften besitzt, zeigt keine Eigenreduktion und reagiert nicht mit Saccharose. Die Werte für die verschiedenen reduzierenden Zuckerarten sind sehr genau reproduzierbar. Die neue Potterat-Eschmann-Methode hat sich bereits in zahlreichen Laboratorien gut bewährt für Zuckerbestimmungen in Lebensmitteln, wie Schokoladen, Milch, Honig und Süssweinen. Die von verschiedenen Analytikern für ein und dasselbe Lebensmittel erhaltenen Werte erreichen eine Genauigkeit, wie dies bisher mit keiner anderen Methode möglich war.

Von der Eidg. Lebensmittelbuch-Kommission wurde daher beschlossen, in der Neuauflage des Lebensmittelbuches die Methode *Potterat-Eschmann* als einzige offizielle Zuckerbestimmungsmethode aufzuführen. Die verschiedenen Arbeitsvorschriften für zuckerhaltige Lebensmittel sind daher so zu modifizieren, dass die oben genannte Methode anwendbar ist.

Für die Trennung kompliziert zusammengesetzter Zuckergemische, wie sie in verschiedenen Nährmitteln vorkommen und welche Glucose, Fructose, Saccharose, Lactose, Maltose und Dextrine enthalten, hat van Voorst⁸) die biochemischen Methoden eingeführt.

Diese Methode beruht darauf, dass die sterilisierte Lösung des Zuckergemisches mit Reinkulturen spezieller Heferassen geimpft wird, worauf einzelne Zuckerarten selektiv vergoren werden.

Die 2 benötigten Hefestämme haben folgende Eigenschaften:

Saccharomyces cerevisiae (sc)

vergärt: Maltose (M), Saccharose (S) Glucose (G), Fructose (F).

nicht vergoren werden: Lactose (L), reduzierende Dextrine (O) und nicht reduzierende Dextrine (D).

Candida pseudotropicalis (cp), auch Torula cremoris genannt

vergärt: Lactose (L), Glucose (G), Fructose (F), Saccharose (S) nicht vergoren werden: Maltose (M), reduzierende und nicht reduzierende Dextrine (O+D).

Die biochemischen Zuckerbestimmungen sind von van de Kamer, ⁹) Mossel, ¹⁰) Hadorn ¹¹) überprüft und einstimmig als zuverlässig beurteilt worden. Die Zukkerbestimmung nach erfolgter Vergärung kann nach verschiedenen, allgemein üblichen Methoden durchgeführt werden.

Van Voorst bestimmte die Zuckergehalte mittels der Makromethode nach Luff-Schoorl. 7) Van de Kamer, sowie Mossel benützten die Halbmikromethode nach van de Kamer. 12) Hadorn hat die für Serienuntersuchungen besser geeignete titrimetrische Methode Hadorn und von Fellenberg 6) vorgeschlagen. Nach dieser Methode sind im Auftrag der Lebensmittelbuch-Kommission in verschiedenen schweiz. Lebensmitteluntersuchungslaboratorien vergleichende Analysen von Nährmitteln durchgeführt worden. Die Resultate, welche zum grössten Teil auch publiziert 13) 14) worden sind, waren durchaus zufriedenstellend.

Es wäre natürlich ein weiterer Fortschritt, wenn die Zuckerbestimmungen nach der genaueren Methode Potterat-Eschmann durchgeführt werden könnten. Ob dies mit genügender Genauigkeit gelingt, soll in dieser Arbeit durch Versuche abgeklärt werden. Es muss geprüft werden, ob die in den Gärkölbehen wachsende Hefe keine Stoffwechselprodukte an die Lösung abgibt, welche die anschliessende Zuckerbestimmung stören. Wie gezeigt werden konnte, wirken beispielsweise gewisse Aminosäuren stark störend und können eine genaue Zuckerbestimmung verunmöglichen. ¹⁵) ¹⁶) ¹⁷)

Ferner ist zu untersuchen, wie die wässerigen Auszüge am zweckmässigsten geklärt werden, und wie das Reduktionsvermögen der unvergorenen Dextrine, welche Maltose oder Lactose vortäuschen, rechnerisch eliminiert wird.

Eigene Versuche

1. Die Klärung der Lösungen

Die Klärung wässeriger Auszüge von Nährmitteln erfolgt am zweckmässigsten mit Carrez-Lösung I und II. Das so geklärte Filtrat enthält jedoch immer geringe Mengen Zink-Ionen. Diese müssen vor dem Impfen mit Hefe entfernt werden, weil sie die Gärung verhindern. Der von Carrez, 18) Streuli und Stesel, 19) sowie Potterat 2) empfohlene Zusatz von Natronlauge ist bei Nährmitteln nicht zu empfehlen, da derart geklärte Lösungen gelegentlich sehr schlecht filtrieren. Das in der Lösung enthaltene überschüssige Zink lässt sich mit Dinatriumphosphat quantitativ ausfällen. Phosphat-Ionen hemmen die Gärung nicht, sind aber bei der komplexometrischen Zuckerbestimmung wegen ihrer puffernden Wirkung unerwünscht.

Nach beendeter Gärung erhält man eine durch Hefe stark getrübte Lösung. Van Voorst, van de Kamer, sowie Mossel benützen für die Zuckerbestimmung nach Luff-Schoorl aliquote Teile dieser hefehaltigen Flüssigkeit ohne vorherige Klärung. Für die Zuckerbestimmung nach Potterat-Eschmann dagegen, bei welcher das ausgeschiedene Kupferoxydul abfiltriert wird, muss unbedingt eine geklärte, leicht filtrierbare Lösung benützt werden.

Wir haben daher nach der Vergärung eine zweite Klärung mit Carrez-Lösung durchgeführt. Dabei muss aber berücksichtigt werden, dass durch die in der Lösung vorhandenen Phosphat-Ionen ein Teil des Zinks der Carrez-Lösung II bereits gebunden wird. Die für die Zuckerbestimmung zu verwendende Lösung darf nach Versuchen von *Potterat* nur Spuren Zink enthalten. Ein geringer Überschuss an Ferrocyanid ist jedoch noch viel schädlicher, wie nachstehende Versuche in Tabelle 1 beweisen.

Tabelle 1

Zu je 10 ml einer Lactoselösung (108,1 mg Lactosehydrat in 100 ml) werden steigende Mengen Carrez-Lösung I zugesetzt, und die Zuckerbestimmung nach Methode Hadorn und von Fellenberg, sowie nach Potterat-Eschmann durchgeführt.

Zusatz von Carrez-Lösung 1		Methode Hado	rn u. v.Fellenberg	Methode Potterat - Eschmann		
ml	K4[Fe(CN)6]	gefunden: Lactosehydrat mg	Abweichung vom theoretischen Wert 0/0	gefunden: Lactosehydrat mg	Abweichung vom theoretischen Wert	
0 0,01 0,05 0,2	0 1,5 7.5 30	10,90 10,36 9,96 1,11	+ 0,8 - 4,2 - 35,6 - 89,7	10,68 8,14 5,00	$ \begin{array}{c cccc} & - & 1,2 \\ & - & 24,7 \\ & - & 53,8 \\ & - & 100 \end{array} $	

Ein ganz minimaler Überschuss an Kaliumferrocyanid, beispielsweise 0,01 ml Carrez-Lösung I in 10 ml Zuckerlösung verursacht bereits einen relativen Fehler von mehr als 4 % bezw. 25 %. Bei der zweiten Klärung muss also eine genügende Menge Zinksulfat zugesetzt werden, um alles Phosphat und das gesamte Kaliumferrocyanid auszufällen. Der Zinküberschuss lässt sich alsdann durch einen Zusatz von Natronlauge bis auf geringe, nicht mehr störende Mengen entfernen.

Die von uns schliesslich angewendeten zwei Klärungen, die sich bei Nährmittel-Analysen gut bewährt haben, geschehen im Prinzip folgendermassen:

Das Nährmittel wird in heissem Wasser gelöst, abgekühlt und in einem Messkolben mit gleichen Teilen Carrez-Lösung I und II (pro g Nährmittel je 0,5 ml) versetzt und gut gemischt. Zur Entfernung des Zinküberschusses gibt man einen Überschuss an Dinatriumphosphat-Lösung zu, füllt bis zur Marke auf und filtriert. (Bei der früher mitgeteilten Vorschrift 11) wurde zuerst filtriert, dann festes Dinatrium-phosphat zum Filtrat zugesetzt und erneut filtriert.)

Aliquote Teile (20 ml) dieses zinkfreien Filtrates werden für die Gärversuche verwendet. Nach beendeter Gärung (48 Stunden) spült man die trüben Lösungen in 50 oder 100 ml Messkolben, worauf die zweite Klärung erfolgt. Man gibt der Reihe nach je 0,5 ml Carrez-Lösung I, 0,5 ml Carrez-Lösung II und 4 ml 0,1 n-Natronlauge zu. Nach dem Auffüllen bis zur Marke wird filtriert.

Dieses Filtrat, welches weder Kaliumferrocyanid, noch Phosphat oder Zink in störenden Mengen enthält, ist für die Zuckerbestimmung nach einer beliebigen Methode geeignet.

2. Modellversuche mit Mischungen reiner Zuckerlösungen .

Es wurden vorerst Stammlösungen von chemisch reiner Lactose, Maltose und Saccharose zubereitet und der Zuckergehalt sowohl polarimetrisch, als auch nach der Methode Potterat-Eschmann kontrolliert. Aliquote Teile (enthaltend 100–200 mg Zucker) wurden in gereinigte, ausgedämpfte Erlenmeyerkolben abpipettiert und 10 ml Hefewasser zugesetzt. Die mit Wattepfropfen verschlossenen Erlenmeyer wurden durch Einkochen auf 5–10 ml sterilisiert. Sofort nach dem Erkalten wurde geimpft und während 48 Stunden bei 30° vergoren. Anschliessend wurden die Lösungen zur Abtötung der Hefe kurz aufgekocht, in 100 ml Messkolben übergeführt und mit je 0,5 ml Carrez-Lösung I und II und mit 4 ml 0,1 n-Natronlauge geklärt.

Die Zuckerbestimmungen erfolgten sowohl nach der Methode *Hadorn* und von Fellenberg (mit Fehling-Lösung), als auch nach der Methode *Potterat-Eschmann* (komplexometrisch) in je 10 ml des geklärten Filtrates (1/10 Einwaage).

Die Resultate sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Die Lactose und Maltose-Gehalte werden nach der Vergärung innerhalb einer Fehlergrenze von \pm 2 % richtig wiedergefunden, was als gut zu bezeichnen ist. Beide Zuckerbestimmungsmethoden sind brauchbar. Es scheint, dass die Methode Potterat-Eschmann eher etwas zu niedrige Werte liefert. Beim Versuch 8, wo eine Mischung von Lactose, Maltose und Saccharose (ca. 400 mg Gesamtzucker) mit beiden Hefen vollständig vergoren wurde, ergab die Methode Hadorn und von Fellenberg einen scheinbaren Zuckergehalt, welcher 1,5 mg Glucose oder 2,7 mg Maltosehydrat entspricht. Nach der Methode Potterat-Eschmann wurde überhaupt keine Spur Zucker gefunden.

3. Gibt die Hefe Stoffwechselprodukte an die Lösung ab, welche die Zuckerbestimmung nach Potterat-Eschmann stören?

Die Methode Potterat-Eschmann ergab in allen bisherigen Versuchen in den teilweise vergorenen Zuckerlösungen etwas zu niedrige Resultate, während nach der Methode Hadorn und von Fellenberg in aliquoten Teilen der gleichen Lösung fast ausnahmslos etwas zu hohe Werte erhalten wurden. Es wäre möglich, dass die Hefe während ihres Wachstums und ihrer Fermenttätigkeit (48 Std. bei 30°)

Nr.		Geimpft mit	Methode Hadorn und v. Fellenberg			Methode Potterat und Eschmann		
	Zuckergemisch im Gärkölbchen		ml 0,02 n-J	mg Zucker L = Lactosehydrat M = Maltosehydrat	Abweichung vom theoret. Wert in ^o /o	ml 0,02 n- Komplexon	mg Zucker L = Lactosehydrat M = Maltosehydrat	Abweichung vom theoret. Wert in º/o
1	Lactosehydrat = 200,0 mg Maltosehydrat = 194,8 mg	Cand. ps.	16,95	199,8 M	+ 2,5	19,00	195,0 M	+ 0,1
2	Lactosehydrat = 100,0 mg Maltosehydrat = 97,4 mg Saccharose = 200,0 mg	Cand. ps.	8,40	99,0 M	+ 1,6	9,44	97,0 M	- 0,4
3	Lactosehydrat = 200,0 mg Maltosehydrat = 195,2 mg	Cand. ps.	16,62	195,5 M	+ 0,2	18,82	193,0 M	-1,1
4	Lactosehydrat = 100,0 mg Maltosehydrat = 97,6 mg Saccharose = 200,0 mg	Cand. ps.	8,37	98,5 M	+ 0,9	9,62	98,5 M	+ 0,9
5	Lactosehydrat = 100,0 mg Maltosehydrat = 97,4 mg Saccharose = 200,0 mg	Sacch. cer.	10,52	101,8 L	+ 1,8	8,80	98,5 L	-1,5
6	Lactosehydrat = 101,0 mg Maltosehydrat = 100,0 mg	Sacch. cer.*	20,82	100,5 L	- 0,5	18,40	101,2 L	+ 0,2
7	Lactosehydrat = 100,0 mg Maltosehydrat = 97,6 mg Saccharose = 200,0 mg	Sacch. cer.	10,40	100,5 L	+ 0,5	8,92	99,5 L	- 0,5
8	Lactosehydrat = 100,0 mg Maltosehydrat = 97,6 mg Saccharose = 200,0 mg	Cand. ps. + Sacch. cer.	0,23	1,5 Glucose 2,7 M		0	0	0

^{*)} Nach der Vergärung auf 50 ml verdünnt.

gewisse Stoffwechselprodukte an die Substratlösung abgibt, welche einen Einfluss auf die Zuckerbestimmung ausüben. So ist bekannt, dass gewisse Aminosäuren die Zuckerbestimmung nach Potterat-Eschmann stören. Es wurden daher mit einer derartigen Substratlösung, in welcher ca. 400 mg eines Zuckergemisches durch beide Hefen vollständig vergoren worden sind (Lösung von Versuch 8 in Tabelle 2) einige Versuche angesetzt. Die Lösung wurde nach Carrez geklärt, auf 100 ml verdünnt und filtriert. Wie bereits erwähnt, zeigt diese Lösung kein Reduktionsvermögen gegenüber der Komplexon-Kupferlösung nach Potterat-Eschmann, während sie Fehlingsche Lösung schwach, aber deutlich nachweisbar reduziert.

Es wurden nun je 10,05 mg Lactosehydrat (L) zu 5 ml bezw. 10 ml dieser Substratlösung zugegeben und das Reduktionsvermögen wie üblich nach *Potterat-Eschmann* bestimmt.

$$10,05 \text{ mg L} + 10 \text{ ml H}_2\text{O} = 9,08 \text{ ml } 0,02 \text{ n-Komplexon}$$

 $9,04 \text{ ml} = 8,98 \text{ ml}$
 $8,94 \text{ ml} = 8,94 \text{ ml}$
 $10,05 \text{ mg L} + 10 \text{ ml } \text{ substratl\"osung} = 8,92 \text{ ml}$

Bei Anwesenheit von Substratlösung werden durchwegs etwas niedrigere Werte erhalten als mit reiner Lactoselösung in Wasser. Zwischen dem Versuch mit reiner Lactoselösung und dem Versuch mit Lactose in 10 ml Substratlösung beträgt die Abnahme 1,55 % (relativer Fehler). Die bei den Modellversuchen nach Potterat-Eschmann gefundenen etwas zu niedrigen Werte könnten somit auf die Wirkung von Stoffwechselprodukten der Hefe zurückgeführt werden.

4. Modellversuche mit Zucker- und Dextrin-Mischungen

Bei der Analyse von Malzextrakten und Nährmitteln kommen neben den vergärbaren Mono- und Disacchariden stets noch beträchtliche Mengen von Dextrinen vor. Diese sind nicht vergärbar, sie besitzen aber je nach ihrer Natur (Kettenlänge) ein stärkeres oder schwächeres Reduktionsvermögen gegenüber den üblichen Zuckerbestimmungs-Reagenzien wie Luff- und Fehling-Lösung. Bei der Berechnung des Lactose- bezw. Maltosegehaltes müssen daher am Titrationswert entsprechende Korrekturen für die reduzierenden Dextrine vorgenommen werden. Diese Korrektur wird jeweils in einem speziellen Gärversuch ermittelt. Man impft mit beiden Hefen, und nachdem alle vergärbaren Zucker zerstört sind, bleiben nur die Dextrine übrig, deren Reduktionsvermögen gesondert bestimmt wird.

Wir haben einige diesbezügliche Modellversuche mit Dextrin Ph.H.V., Lactose und Maltose angesetzt. Die beiden in der Tabelle 3 angegebenen identischen Versuchsserien 1 und 2 wurden unabhängig voneinander in einem Intervall von 5 Tagen angesetzt. Man erkennt, dass die Resultate gut reproduzierbar sind.

Modellversuche mit Lactose, Maltose und Dextrin-Mischungen

Zuckergemisch in den Gärkölbchen:

Lactosehydrat (L) = 100,0 mg
Maltosehydrat (M) = 97,5 mg
Dextrin (wasserfrei) = 181,0 mg
Reduktionsvermögen der Dextrine = O

Nr.		Zucker- arten nach Ver- gärung	Methode Hadorn und v. Fellenberg			Methode Potterat und Eschmann				
	Geimpft mit		ml 0,02 n-J	Berechnung ml	Resultat	Abweichung vom theoret, Wert in ^O /o	ml 0,02 n- Komplexon	Berechnung ml	Resultat	Abweichung vom theoret. Wert in ^o /o
la	Sacch. cer.	L+0	11,10	L+O = 11,10 O = 0,93 L = 10,17	10,01 mg L	+ 0,1	10,10 9,90	L 10,10 9,90 1,32 1,30 8,78 8,60	9,81 mg L 9,63 mg L	- 1,9 - 3,7
1b	Cand. ps.	M+O	9,16	M+O = 9,16 O = 0,93 M = 8,23	9,88 mg M	+ 1,3	10,46 10,50	$ \begin{array}{c} M \\ 10,46 & 10,50 \\ \underline{1,32} & \underline{1,30} \\ 9,14 & 9,20 \end{array} $		
1c	Sacch. cer. + Cand. ps.	0	0,93	O = 0,93	0,64 mg ber. als Glucose	-	1,30 1,32	_	_	
2a	Sacch. cer.	L+O	10,76	$ \begin{array}{c} \text{L+O} &= 10,76 \\ \text{O} &= 0,85 \\ \text{L} &= 9,91 \end{array} $	9,76 mg L	-2,4	9,80	L 9,80 1,30 8,50	9,52 mg L	- 4,8
2b	Cand. ps.	M+O	9,04	M+O = 9,04 O = 0,85 M = 8,19	9,83 mg M	+ 0,8	10,50	$ \begin{array}{r} M \\ 10,50 \\ \hline 1,30 \\ \hline 9,20 \end{array} $	9,47 mg M	- 2,9
2c	Sacch. cer. + Cand. ps.	0	0,85	O = 0.85	0,58 mg ber. als Glucose	_	1,30		<u> </u>	

Die Methode *Hadorn* und *von Fellenberg* gibt innerhalb der üblichen Fehlergrenze der biochemischen Methode (± 2 %) richtige Werte für Lactose und Maltose. Nach der Methode *Potterat-Eschmann* findet man in aliquoten Teilen der gleichen Lösungen durchwegs etwas zu niedrige Werte. Es scheint, dass das Reduktionsvermögen der Dextrine, welches in den Versuchen c ermittelt wurde, etwas zu hoch ausfällt und unsere Berechnung der Lactose und Maltose fälscht.

Es war noch die Frage abzuklären, ob die Gegenwart von Dextrinen die Zuckerbestimmung stört, etwa in dem Sinne, dass der Reduktionswert einer gegebenen Menge Lactose durch gleichzeitig anwesendes Dextrin geändert wird. Wir haben in den Versuchen der Tabelle 4 den Reduktionswert einer reinen Lactoselösung (200 mg Lactosehydrat in 100 ml), einer reinen Dextrinlösung (414 mg wasserfreies Dextrin in 100 ml) und einem Gemisch, bestehend aus Lactose+Dextrin nach Potterat-Eschmann ermittelt.

Tabelle 4

Nr.	Ansatz	10 ml der Lösung enthalten	Verbrauch an 0,02 n- Kom- plexonlösung ml	Mittelwert
1	5 ml Dextrin 5 ml H ₂ O	20,7 mg Dextrin	1,44 1,50	1,47
2	5 ml Lactose 5 ml H ₂ O	10,0 mg Lactosehydrat	8,96 8,96	8,96
3	5 ml Dextrin 5 ml Lactose	20,7 mg Dextrin 10,0 mg Lactosehydrat	10,40 10,40	10,40

Berechnet man die Differenz zwischen Komplexon-Verbrauch der Lactose-Dextrin-Mischung und dem Verbrauch der reinen Dextrinlösung, so ergibt sich fast genau der Verbrauch der reinen Lactoselösung:

> Lactose-Dextrin-Mischung = 10,40 ml 0,02n-Komplexonreine Dextrin-Lösung = 1,47 ml 0,02n-Komplexon

= 8,93 ml 0,02n-Komplexon

Die reine Lactose-Lösung verbrauchte

= 8,96 ml 0,02n-Komplexon

Das Dextrin stört somit die Lactosebestimmung nicht.

5. Analyse von Malzextrakt und Nährmitteln des Handels

Schliesslich wurden noch ein Trocken-Malzextrakt sowie zwei Kraftnährmittel des Handels nach den im Abschnitt Methodik angegebenen Vorschriften untersucht.

Die Zuckerbestimmung nach der selektiven Vergärung wurde in den geklärten Lösungen wie bisher, sowohl nach der Methode *Hadorn* und *von Fellenberg*, als auch nach der Methode *Potterat-Eschmann* durchgeführt. Die Resultate sind in der Tabelle 5 aufgeführt.

Tabelle 5 Analyse von Malzextrakt und Kraftnährmitteln

Nr.	Untersuchungsmaterial	Zuckerart	Methode Hadorn und v.Fellenberg	Methode Potterat- Eschmann
1.	Trockenmalzextrakt	Maltose (wasserfrei) Reduzierende Dextrine, ber. als Glucose	49,8 % % % % % % % % % % % % % % % % % % %	48,8 °/0 6,8 °/0
2	400 mg Trockenmalzextrakt }	Lactosehydrat	102,8 mg	101,1 mg
3	Kraftnährmittel (N)	Maltose (wasserfrei) Lactose (wasserfrei) Reduzierende Dextrine, ber. als Glucose	$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	
4	Kraftnährmittel (V)	Maltose (wasserfrei) Lactose (wasserfrei) Reduzierende Dextrine ber. als Glucose	27,3 °/ ₀ 7,8 °/ ₀ 4,2 °/ ₀	27,1 °/0 7,8 °/0 5,2 °/0

Die Gehalte für Lactose und Maltose stimmen nach den beiden Methoden befriedigend überein. Beim Versuch 2 wurden zur weiteren Kontrolle der Methode im Gärkölbchen zu 400 mg Trockenmalzextrakt 101,7 mg Lactosehydrat zugesetzt. Nach der Vergärung mit Saccharomyces cerevisiae wurde auf ± 1,1 % genau der theoretische Lactosegehalt wieder gefunden.

Die Werte für das Reduktionsvermögen der Dextrine, ausgedrückt in Glucose, fallen je nach der angewendeten Methode stark verschieden aus. Dies ist nicht besonders verwunderlich, wenn man bedenkt, dass es sich ja nicht um eine Glucose-Bestimmung handelt. Dextrin besteht aus verschieden langen Molekeln, welche sich aus Glucoseresten aufbauen. Reduzierend wirken nur die endständigen freien Aldehydgruppen. Das Reduktionsvermögen der Endgruppen ist offenbar gegenüber den zwei verwendeten Reagenzien (Fehling-Lösung bezw. Kupfer-Komplexon-Lösung nach Potterat-Eschmann) ganz verschieden und gibt daher als Glucose berechnet abweichende Resultate. Bei der Berechnung des Lactose-und des Maltose-Gehaltes von Nährmitteln, welcher im nächsten Abschnitt behandelt wird, zieht man die Korrektur für die reduzierenden Dextrine ab. Die erwähnten, methodisch bedingten Unterschiede für das Reduktionsvermögen der

Dextrine sind dann ohne Bedeutung. Die Lactose- und Maltose-Gehalte werden nach beiden Methoden richtig gefunden, wie aus den Werten der Tabelle 5 hervorgeht.

6. Berechnung der Resultate von Nährmittel-Analysen

Wie in der Einleitung beschrieben wurde, sind bei Nährmittel-Analysen 3 verschiedene Gärversuche anzusetzen, um einerseits die Werte für Lactose und Maltose, andererseits die Korrektur für die reduzierenden Dextrine zu ermitteln. Im Gegensatz zum Vorgehen, wie es Potterat 2) für die Berechnung des Saccharosegehaltes bei Milchschokoladen angibt, darf man bei Nährmittel-Analysen die Korrektur für die reduzierenden Dextrine nicht einfach in ml Komplexon vom Titrationswert für Lactose und Dextrin, bezw. Maltose und Dextrin subtrahieren. Die Funktion, welche den Zusammenhang zwischen Zuckermenge und verbrauchter Komplexonlösung gibt, wird graphisch durch eine gekrümmte Kurve, welche nicht durch den Nullpunkt geht, dargestellt. Um richtige Resultate zu erhalten, müssen die Titrationswerte (ml 0,02 n-Komplexon) vorerst in Lactose bezw. Maltose umgerechnet werden und erst die mg der Zuckerart dürfen voneinander subtrahiert werden. Die Richtigkeit dieses Vorgehens wird durch folgende Überlegungen bestätigt:

Eine Stammlösung soll 30,0 mg Maltose in 10 ml enthalten. Bei der Vergärung sollen 20,0 mg Maltose vergoren werden, 10 mg Maltose sollen unvergoren bleiben (entsprechend den reduzierenden Dextrinen).

Bei der Titration wird man folgende Werte finden, welche der Tabelle 1 aus der Arbeit von *Potterat* ²) entnommen wurden:

Bei Subtraktion der ml Komplexon findet man in diesem Fall ein um 5 % zu niedriges Resultat. Bei kleinen Titrationswerten, wenn das Reduktionsvermögen der Dextrine weniger als 2,5 ml Komplexonlösung beträgt, werden die Fehler verschwindend klein. Man darf in diesen Fällen die ml voneinander subtrahieren.

7. Methodik

Die Vorbereitung der Lösungen und die selektive Vergärung wurde, abgesehen von kleineren Verbesserungen, nach der früher mitgeteilten Arbeitsvorschrift ¹¹) durchgeführt. Über die Züchtung der Hefe-Reinkulturen sowie über die Zubereitung des «Hefewassers» ist dort alles Nötige gesagt.

a) Herstellung der Stammlösung

Von Kraftnährmitteln werden 2 g (genau gewogen) in einem 100 ml Messkolben mit ca. 80 ml heissem Wasser übergossen und das Kölbchen umgeschwenkt, bis sich die Masse gleichmässig verteilt.

Von stärkehaltigen Kindernährmitteln werden 4 g mit 50° warmem Wasser während 10–15 Minuten digeriert.

Nachdem sich im Kölbchen keine Knollen mehr zeigen, und der Zucker in Lösung gegangen ist, wird auf Zimmertemperatur abgekühlt. Man setzt nun unter jeweiligem Mischen je 1 ml Carrez-Lösung I und II, sowie 3 ml Phosphatlösung (10 g Na₂HPO₄. 12 H₂O in 100 ml Wasser) zu und füllt bei Normaltemperatur bis zur Marke auf. Die Lösung wird durch ein trockenes Faltenfilter von 12,5 cm Durchmesser filtriert, wobei man die ersten 5–10 ml Filtrat verwirft. Diese geklärte, zinkfreie Stammlösung dient für die Gärversuche.

Malzextraktlösungen (2 g Malzextrakt in 100 ml) brauchen vor der Vergärung nicht geklärt zu werden.

b) Sterilisieren und Impfen

In 3 gut gereinigte, frisch ausgedämpfte Erlenmeyerkolben von 200 ml Inhalt pipettiert man je 20 ml der Stammlösung und 10 ml Hefewasser. Man gibt einige Körnchen Bimsstein und als Schaumbekämpfungsmittel eine Spur Stearinsäure zu, verschliesst die Kolben mit einem passenden Wattepfropfen und sterilisiert sie, indem man die Lösung auf einem Sandbad vorsichtig auf 5–10 ml einkocht. Sofort nach dem Erkalten werden die 3 sterilisierten Erlenmeyerkölbchen mit je einer Oese voll wachsender, während 24–48 Stunden bei 30° gezüchteter Hefereinkultur wie folgt geimpft:

Versuch 1. Für Lactose-Bestimmung mit Saccharomyces cerevisiae
$$R_{\rm I}^{\rm sc} = L + O + D$$
 (1)

Versuch 2. Für Maltose-Bestimmung mit Candida pseudotropicalis $R_{\rm I}^{\rm cp} = M + O + D$ (2)

Versuch 3. Für Dextrin-Bestimmung mit Saccharomyces cerevisiae + Candida pseudotropicalis $R_{\rm I}^{\rm sccp} = O + D$ (3)

Nachdem man die Hefe an der innern Kolbenwand abgestreift hat, wird die Offnung des Kolbens abgeflammt und sofort wieder verschlossen. Durch vorsichtiges Umschwenken verteilt man die Hefe in der Flüssigkeit und bebrütet die Kolben während 48 Stunden bei 30°.

c) Klärung nach der Vergärung, Lactose- und Maltose-Bestimmung

Nach beendeter Gärung wird die Flüssigkeit in den Kolben zwecks Abtötung der Hefen, nach Zusatz von ca. 10 ml Wasser aufgekocht und der Inhalt je nach zu erwartendem Zuckergehalt in 50 oder 100 ml Messkolben gespült. (Bei Malzextrakt: 100 ml Messkölbehen, bei Kraftnährmitteln und Kindermehlen 50 ml Messkölbehen). Zur Klärung setzt man unter jeweiligem Nachspülen des Kolbenhalses und gutem Umschwenken der Reihe nach zu:

0,5 ml Carrez-Lösung I (15 g Kaliumferrocyanid in 100 ml) 0,5 ml Carrez-Lösung II (30 g Zinksulfat in 100 ml) 4,0 ml 0,1n-NaOH

füllt bei Normaltemperatur zur Marke auf, mischt gut durch und filtriert durch ein trockenes Faltenfilter von 10 cm Durchmesser. Die ersten 5 ml Filtrat werden wiederum verworfen. Je 10 ml des Filtrates (1/25 bezw. 1/50 der Einwaage) dienen zur Zuckerbestimmung nach Potterat-Eschmann. Für die Zuckerbestimmung nach Hadorn und von Fellenberg verwendet man je nach Lactose- oder Maltosegehalt 5 bezw. 10 ml Filtrat.

d) Bestimmung des Gesamtdextrins

25 ml des Filtrates aus dem Gärversuch Nr. 3, welches nur noch die reduzierenden und nichtreduzierenden Dextrine enthält, werden in einem 50 ml Messkölbehen mit 3,0 ml 25 % iger Salzsäure versetzt und während 1½ Stunden in einem siedenden Wasserbad erhitzt. Man kühlt ab und neutralisiert mit 4n-Natronlauge (ca. 6 ml) unter Verwendung von Methylorange als Indikator, füllt zur Marke auf und bestimmt in 10 ml Lösung die durch Hydrolyse entstandene Glucose nach *Potterat-Eschmann*. Bei der vollständigen Hydrolyse entstehen aus 90 Teilen Dextrin theoretisch 100 Teile Glucose.

Berechnung

Zur Berechnung der Lactose und Maltose muss von den bei den Versuchen 1 und 2 gefundenen Werten das Reduktionsvermögen der Dextrine (Versuch 3) abgezogen werden. Dazu sind vorher alle Titrationswerte in Lactose, bezw. Maltose umzurechnen. (Zuckertabelle) *

^{*} Aus nicht restlos abgeklärten Gründen haben wir für Lactose und Maltose nicht genau die gleiche Eichkurve erhalten, wie sie Potterat in seiner Schokolade-Arbeit ²) in der Tabelle 1 veröffentlicht hat. Bei Benützung dieser Tabelle fanden wir, besonders bei geringen Zuckergehalten (Titrationswert 5—10 ml) zu niedrige Resultate, während bei höheren Zuckergehalten (Titrationswerte von ca. 20 ml) die Resultate richtig ausfielen. Wir haben uns daher für Lactose und Maltose eigene Eichkurven aufgestellt und alle Werte dieser Arbeit aus unseren eigenen Kurven abgelesen.

Beispiel (Nährmittel V)

Einwaage a = 2,00 g gelöst in Wasser. Nach der 1. Klärung wurde auf 100 ml verdünnt und filtriert. Je 20 ml Filtrat wurden in die Gärkölbehen abpipettiert und vergoren. Nach der 2. Klärung wurde auf 50 ml verdünnt und filtriert. Davon je 10 ml (1/25 a = 80 mg) für die Zuckerbestimmung nach *Potterat-Eschmann* verwendet.

Versuch (1) Sacch. cer.
$$=$$
 L+O $=$ 11,40 ml 0,02n-Komplexon Versuch (2) Cand. ps. $=$ M+O $=$ 27,25 ml 0,02n-Komplexon Versuch (3) Sacch. cer. $+$ Cand. ps. $=$ O $=$ 5,30 ml 0,02n-Komplexon

Lactose

Versuch (1)
$$L+O = 11,40 \text{ ml} = 11,59 \text{ mg}$$
 Lactose Versuch (3) $O = 5,30 \text{ ml} = 5,40 \text{ mg}$ Lactose in 80 mg Nährmittel $= 6,19 \text{ mg}$ Lactose Lactosegehalt $= 7,75 \text{ } ^{0}/_{0}$

Maltose

Versuch (2)
$$M+O = 27,25 \text{ ml} = 26,82 \text{ mg Maltose}$$

Versuch (3) $O = 5,30 \text{ ml} = 5,16 \text{ mg Maltose}$
in 80 mg Nährmittel $= 21,66 \text{ mg Maltose}$
Maltosegehalt $= 27,1 \text{ e/o}$

Zusammenfassung

- 1. In Zuckermischungen bekannter Zusammensetzung sowie in einem Malzextrakt und in Kraftnährmitteln des Handels wurden Maltose und Lactose durch selektive Vergärung nach van Voorst getrennt. Die chemische Zuckerbestimmung erfolgte einerseits titrimetrisch nach Hadorn und von Fellenberg (Fehlinglösung), andererseits komplexometrisch nach Potterat-Eschmann.
- 2. Bei Modellmischungen mit reinen Zuckerarten sowie auch bei Gegenwart von Dextrin geben beide Methoden brauchbare Resultate. Die Methode Potterat-Eschmann gibt, besonders bei Gegenwart von Dextrin etwas niedrigere Werte.
- 3. Verschiedene Versuche lassen darauf schliessen, dass die Hefe während ihres Wachstums und der Vergärung des Zuckers Stoffwechselprodukte an die Lösung abgibt, welche die Resultate bei der Methode *Potterat-Eschmann* etwas herabdrücken. Bei Handels-Analysen können diese Fehler vernachlässigt werden.
- 4. Bei Nährmitteln des Handels wurden nach beiden Methoden gute Resultate erhalten. Die Berechnung der Resultate, insbesondere die Korrektur für die reduzierenden Dextrine (nicht vergärbar) wird erörtert.

Résumé

- 1 On a séparé le lactose et le maltose, par fermentation sélective selon van Voorst, dans des mélanges de sucres de composition connue ainsi que dans un extrait de malt et dans 3 produits diététiques commerciaux. Le dosage chimique du sucre a été fait titrimétriquement, selon Hadorn et von Fellenberg (solution de Fehling), et complexométriquement, selon Potterat-Eschmann.
- 2. Les deux méthodes ont donné des résultats utilisables pour des mélanges de sucres purs contenant ou non de la dextrine. La méthode *Potterat-Eschmann* donne des valeurs un peu plus faibles, surtout en présence de dextrine.
- 3. Divers essais ont mené à la conclusion que la levure cède à la solution, lors de sa croissance et de la fermentation du sucre, des produits de son métabolisme qui abaissent un peu les valeurs données par la méthode *Potterat-Eschmann*. Ces erreurs peuvent être négligées dans le cas d'analyses commerciales.
- 4. On a obtenu de bons résultats avec les 2 méthodes pour les produits alimentaires du commerce. On décrit le mode de calcul des résultats et en particulier la correction à apporter pour les dextrines réductrices (non fermentescibles).

Summary

The lactose and maltose content of various sugar mixtures, with or without dextrin, and of commercial foodstuffs has been determined by using the selective fermentation method of van Voorst followed by titration according to Hadorn - von Fellenberg (Fehling's solution) or to Potterat-Eschmann (complexometry).

Generally speaking both methods can be safely used; in presence of dextrin the *Potterat-Eschmann's* method gives slightly lower results, this being caused by substances given to the solution by the yeast.

The method for the calculation of the results is described.

Literatur

- 1) Potterat M. und Eschmann H., diese Mitt. 45, 312 (1954).
- 2) Potterat M., Révue internationale de la Chocolaterie 10, 1 (1955).
- 3) Potterat M., Zucker- und Süsswarenwirtschaft 8, 46 (1955).
- 4) Schweiz. Lebensmittelbuch 4. Aufl. S. 165 (1937).
- ⁵) Official Methods of Analysis of the Association of official Agricultural chemists (A.O.A.C.) 7. Aufl. Washington S. 506 (1950).
- 6) Hadorn H., und von Fellenberg Th., diese Mitt. 36, 359 (1945).
- 7) Schoorl N., Chem. Weekblad 26, 130 (1929), Z.U.L. 57, 566 (1922).
- 8) Van Voorst F. Th. «A reductometric and biochemical System for analysis of Sugar Mixtures». International Congress on analytical Chemistry at Utrecht (Neetherlands) June 1—3 1948, Section V, vgl. Anal. Chim. Acta 2, 813 (1948). Biochemische suikerbepalingen, Chem. Weekblad 35, 338 (1938), ebenda 35, 677
 - (1938), Zetmeelstrop, massé en moutextract, ebenda 36, 253 (1939).
- 9) Van de Kamer J. H. und Jansen N. F., Chem. Weekblad 42, 184 (1946).
- ¹⁰) Mossel D. A. A., diese Mitt. **42**, 18 (1951).
- ¹¹) Hadorn H., diese Mitt. 42, 23 (1951).
- 12) Van de Kamer J. H., Chem. Weekblad 39, 585 (1942).

¹³) Vergleichende Untersuchungen an diätischen Nährmitteln, Gemeinschaftsarbeit, diese Mitt.44, 348 (1953).

¹⁴) Vergleichende Untersuchungen an Kindernährmitteln, Gemeinschaftsarbeit, diese

Mitt. 45, 402 (1954).

15) Täufel K. und Iwainsky H., Zschr. analyt. Chem. 136, 31, (1952).

¹⁶) Iwainsky H., Z.U.L. **100**, 173 (1955).

- 17) Hadorn H. und Biefer K. W.: Über den Einfluss von Aminosäuren auf die Zuckerbestimmung nach der komplexometrischen Methode von Potterat und Eschmann (im Druck).
- ¹⁸) Carrez C., Annales de Chimie analytique 13, 21 et 97 (1908) ebenda14, 187 (1909).

19) Streuli H. und Stessel M., diese Mitt. 43, 417 (1952).

Considérations sur la colimétrie des eaux

Communication faite le 4 juin 1955 à la 45e assemblée annuelle de l'Association des inspecteurs des denrées alimentaires.

Par *E. Bosset*Laboratoire cantonal à Lausanne

Etant donné que le Manuel des denrées alimentaires est en revision, il nous paraît utile de faire le point au sujet de la colimétrie des eaux, en examinant plus particulièrement le problème de l'unification des techniques.

S'il est une question épineuse, c'est bien celle de la standardisation des méthodes d'analyses bactériologiques des eaux. «Un problème souvent posé et jamais résolu», ainsi que le rappelait en 1942 Hauduroy (Revue d'Immunologie).

Notre but est de savoir aussi si telle méthode envisagée pour dépister et numérer les coliformes que contient une eau doit être retenue comme ayant une réelle valeur pratique, ou s'il est préférable de la réserver à certaines recherches.

Depuis nombre d'années déjà, plusieurs hygiénistes et bactériologistes se plaignent – non sans raison – de la diversité des procédés utilisés pour l'analyse bactériologique des eaux, également de la manière dont certains laboratoires croient devoir interpréter les résultats de l'analyse quant au degré de potabilité d'une eau donnée.

Incontestablement, en l'absence de toute unité technique et d'une doctrine uniforme sur l'interprétation des résultats, il paraît impossible que deux laboratoires interrogés sur la valeur d'une eau puissent fournir des réponses identiques.

Cette diversité des méthodes paraît avoir son origine dans la conception que se font plusieurs analystes sur les caractères culturaux du «colibacille», ainsi que dans l'importance qu'ils attribuent – au point de vue hygiénique – à une discrimination entre coli fécal et coliforme ubiquitaire. Cette interprétation personnelle des auteurs nous a valu un grand nombre de milieux pour la recherche de germes très voisins, appartenant à une seule tribu.