Zeitschrift

für

Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel, sowie der Gebrauchsgegenstände.

Heft 8.

15. Oktober 1910.

20. Band.

Über den Nachweis und die quantitative Bestimmung des Saccharins in fett-, stärke- und eiweißreichen Nahrungs- mitteln.

Von

M. Tortelli und E. Piazza.

[Eingegangen am 10. Juli 1910.]

Obwohl die Bestimmung des Saccharins (Benzoessäuresulfimids) und seiner Salze für manche Arten Nahrungs- und Genußmittel, wie für Limonaden, Weine, Biere und Liqueure im allgemeinen leicht auszuführen ist, ist sie doch immer schwierig, langwierig und sogar unsicher bei denjenigen Nahrungsmitteln, die reich an Stärke, Fett und Eiweißstoffen sind, wie solche z. B. natürliche und kondensierte Milch, Kakao, Schokolade, Backwaren mit Rahm und ähnliche sind. Die Schwierigkeiten bei dieser Bestimmung liegen zunächst in der langsamen und schwierigen Filtrierbarkeit, in der leichten Bildung von nicht trennbaren und oft unbeweglichen Emulsionen während der Extraktion, und endlich in dem Umstande, daß oft mit dem Saccharin etwas Fettsubstanzen und Stickstoffverbindungen weiter mitgeschleppt werden, so daß nicht nur die einzelnen Operationen verlangsamt werden, sondern die Bestimmung auch unsicher wird.

Verschiedene Forscher haben sich mit diesem Problem beschäftigt und es wurden auch bereits verschiedene Methoden als geeignet bezeichnet, um alle die Schwierigkeiten zu überwinden. Alle diese Methoden sind aber schließlich nur Abänderungen der beiden folgenden:

1. Ausfällung der Fremdsubstanzen durch Bleiacetat direkt (Eiweißstoffe und Abkömmlinge), oder indirekt (Fettsubstanzen und Stärke), nach den Vorschlägen von Villiers, Magnier de la Source, Rocques und Fayolle¹⁾ und letzthin von Bianchi und di Nola²⁾.

2. Verzuckerung der Stärke durch Erhitzen mit verdünnter Salzsäure, wie es Driessen vorgeschlagen hat³⁾.

Die Ergebnisse, die man mit allen diesen Methoden erhält, können aber im allgemeinen für die fett-, stärke- und eiweißreichen Nahrungsmittel nicht als hinreichend zuverlässig bezeichnet werden.

Da wir vor diesen Schwierigkeiten standen, suchten wir nach einem anderen

¹⁾ Revue Générale de chim. pure et appl. 1904, 7, 146.

²⁾ Bull. Chim. Farmac. 1908, Heft 17.

³⁾ Pharm. Weekblad 1907; Ann. de Chim. analyt. 1908, 11, 81.

Verfahren, das ausnahmslos für alle Nahrungsmittel anwendbar war, die gewöhnlich mit Saccharin versüßt werden. Wir glauben diese Aufgabe gelöst zu haben.

Die erste Schwierigkeit, auf die man stößt, liegt, wie wir schon erwähnten, in der ersten Extraktion des Süßstoffes. Man hat eben hier oft mit Flüssigkeiten zu tun, welche infolge suspendierter Stoffe kolloidaler Natur, die man in keiner Weise zum Absitzen bringen kann, mit entmutigender Langsamkeit filtrieren.

Diesem ersten Übelstand haben wir abgeholfen durch die Anwendung einer bei gewöhnlicher Temperatur gesättigten Lösung von Chlornatrium, die man der zu extrahierenden Flüssigkeit hinzufügt. Während diese Salzlösung bei der Art, wie sie angewendet wird, die Löslichkeit des Süßstoffes in dem Extraktionsmittel nicht beeinflusst, wirkt sie andererseits auf den physikalischen Zustand des Extraktionsmittels ein, indem dadurch alle in dasselbe übergegangenen und in Suspension gebliebenen Substanzen abgeschieden und niedergeschlagen werden. So ist es uns möglich geworden, bei der Extraktion aller möglichen Nahrungsmittel ein ziemlich rasches Filtrieren zu erreichen.

Das angewendete Lösungsmittel ist 95—96 % iger Alkohol, welcher durch den Zusatz der Salzlösung etwas verdünnt wird. Die Extraktion mit Alkohol führt man in alkalischer Lösung aus, nachdem man die Substanz vorher mit feinem Sande und gebranntem Kalk gut vermischt hat. Auf diese Weise erhält man schnell eine alkoholische Flüssigkeit, welche das ganze Saccharin der Probe als Salz gelöst enthält, zusammen mit etwas Extraktivstoffen, Fett- und Eiweißstoffen u. s. w.; die größere oder geringere Menge dieser hängt von der Natur der zu prüfenden Substanz ab. Es liegt also jetzt die Notwendigkeit vor, diese Extraktivstoffe etc. aus der Lösung zu entfernen, ohne die kleinste Menge des etwa vorhandenen Süßstoffes zu verlieren. Zu diesem Zwecke benutzen wir die Eigenschaft des Saccharins als Salz, bei den oben beschriebenen Bedingungen in der alkoholisch-salzigen Flüssigkeit gelöst zu bleiben, auch wenn diese stark und mehrmals mit Petroläther geschüttelt wird. Während also der Petroläther das Saccharin unberührt läßt, nimmt er die Extraktivstoffe, namentlich das Fett, welche in die alkoholische Lösung übergegangen waren, auf und beseitigt sie. Die auf diese Weise mit Hilfe des Petroläthers gereinigte Flüssigkeit kann nun der Extraktion des Süßstoffes unterworfen werden. Diese Extraktion wird mit demselben Lösungsmittel ausgeführt, welches vorher angewendet wurde. Man entfernt den Alkohol durch Destillation und setzt Schwefelsäure hinzu, die das Saccharin als Imid frei macht, in welchem Zustande es weit löslicher in Petrol- und Äthyläther ist als in alkalischer oder salzgesättigter Lösung. Wenn man daher die saure und vom Alkohol befreite Lösung mehrmals mit einer Mischung gleicher Teile Äthyl- und Petroläther extrahiert, oder wie es die Kollegen Bianchi und Di Nola vorgeschlagen haben, mit einer Mischung von Äthyläther und Benzol, so erhält man das ganze in der Probe enthaltene Saccharin in krystallinischer Form und meistens so rein, daß es ohne weiteres gewogen werden kann.

Im nachfolgenden beschreiben wir unsere Methode in ihren Einzelheiten; wir verfahren im allgemeinen, wie folgt:

Extraktion des Saccharins aus der Substanz.

Je nach der Natur der Substanz wendet man von ihr eine verschiedene Menge an. In einem 150 ccm fassenden Becherglase oder in einer Porzellanschale werden derselben etwa 12—18 g feiner Sand und etwa 7—10 g gelöschter Kalk zugemischt

und gut angerührt. Zweck des Sandes ist es, die Masse gut zu zerteilen, um das Eindringen des Lösungsmittels, des Alkohols, zu erleichtern; der Kalk soll das Saccharin binden, wenn dieses als Imid vorhanden ist, und gleichzeitig etwa vorhandenen Zucker unlöslich machen.

Danach behandelt man die Mischung auf dem Wasserbade mit 95 %-igem Alkohol, indem man die Masse gut durchschüttelt und ihr nach jeder Behandlung etwas (5—15 ccm) gesättigte Salzlösung hinzufügt.

Nachdem man die Mischung vom Wasserbade entfernt hat, läßt man sie einige Minuten stehen. Dann gießt man den flüssigen Anteil auf ein Faltenfilter ab. Diese Behandlung wird in derselben Weise drei- bis viermal hintereinander wiederholt; schließlich bringt man die ganze Masse auf das Filter und wäscht sie noch einmal mit der warmen wässrig-salzig-alkoholischen Lösung aus.

Wir lassen nun die genaue Beschreibung der Anwendung des Verfahrens bei einigen von uns analysierten Substanzen folgen, denen wir vorher eine bekannte Menge von Saccharinlösung hinzugefügt hatten.

Milch. Wir nehmen davon etwa 75 ccm, fügen 15—18 g Sand hinzu und 7—10 g Kalk: bei fortwährendem Rühren lassen wir solange auf dem Wasserbade abdampfen, bis wir einen fast, aber nicht ganz trockenen Brei erhalten; jetzt geben wir 50 ccm 95 %-igen Alkohol hinzu, erhitzen bis zum Sieden und dann geben wir 5—10 ccm wässriger Chlornatriumlösung hinzu; nach kurzem Stehenlassen rühren wir um und gießen auf ein Faltenfilter ab. Man wiederholt diese Behandlung dreimal und verwendet jedesmal 40 ccm Alkohol und 10 ccm Salzlösung, sodaß man schließlich im ganzen etwa 200 ccm der Extraktionsflüssigkeit bekommt. Nach der vierten Extraktion wird die Masse auf das Filter gebracht und ein letztes Mal mit der Alkohol-Salzlösung gewaschen.

Kondensierte Milch. Man wendet davon etwa 20 g an, fügt 15—18 g Sand und etwa 8 g Kalk hinzu, vermischt innigst und rührt auf dem Wasserbade gut durch; dann schreitet man ohne weiteres zur alkoholischen Extraktion wie bei gewöhnlicher Milch, fügt aber dem Alkohol von der Salzlösung jedesmal 10—15 ccm hinzu.

Kakao und Schokolade. Die Substanz wird gepulvert und darauf werden 20 g mit 10 g Sand und ebensoviel Kalk gemischt. Die Mischung wird mit 50 ccm 95 %-igem Alkohol in einem Becherglase auf das Wasserbad gebracht und in der oben beschriebenen Weise mit Alkohol und Salzlösung behandelt.

Backwaren mit Rahmzusatz u. ä. Etwa 20 g Substanz werden zerkleinert und mit 15—18 g Sand und 8—10 g Kalk vermischt. Wenn die Masse weich ist, trocknet man sie unter öfterem Rühren und geht dann zur Extraktion über, die in der für Milch beschriebenen Weise erfolgt. Wir bemerken, daß der bei der oben beschriebenen Behandlung erhaltene Extrakt sich oft trübt und manchmal sogar einen leichten Niederschlag absetzt, den man aber auch durch Filtration, die schnell von statten geht, entfernen kann.

Entfernung der Extraktivstoffe, Fette u. s. w.

Wir verfahren, wie folgt: Die auf die oben beschriebene Weise erhaltene Flüssigkeit, die etwa 250 ccm beträgt, befreit man zunächst von dem größten Teil des Alkohols durch Destillation über direkter Flamme nach Zusatz von einigen Stückchen Bimsstein, um das Stossen zu vermeiden; man unterbricht die Destillation sobald die Flüssigkeit etwa

noch ein Drittel beträgt, d. h. etwa 70—80 ccm. Der Rückstand wird abgekühlt und in einen Scheidetrichter gegossen; man fügt in diesem weitere 10—15 ccm der Salzlösung hinzu und dann etwa 100 ccm Petroläther (Siedepunkt 35—75°). Als- dann schüttelt man das Ganze etwa $\frac{1}{4}$ Stunde gut durch, wobei sich keine Emulsion bildet, vielmehr nach kurzer Zeit eine Scheidung der beiden Flüssigkeiten eintritt. Diese Behandlung wiederholt man solange, bis der Petroläther beim Verdampfen keinen Rückstand zurückläßt, was gewöhnlich nach drei Extraktionen der Fall ist. Der Petroläther des ersten Auszuges wird natürlich abdestilliert und dient für die folgenden Auszüge. Zu bemerken ist hier, daß die Einwirkung des Petroläthers eine um so schnellere und vollkommene ist, je weniger Alkohol vorhanden ist, sodaß es vor- teilhafter wäre, die mit Petroläther zu extrahierende Flüssigkeit so viel wie möglich vom Alkohol zu befreien. Trotzdem ist es vorzuziehen, eine gewisse Menge Alkohol darin zu lassen, denn, wie wir sehen werden, ist unsere Methode auch zur Bestimmung des Dulcins anwendbar. Dieser Süßstoff würde sich unter diesen Bedingungen, d. h. wenn bei der Ausschüttelung zu wenig Alkohol vorhanden wäre, möglicherweise aus- scheiden können.

Ausscheidung des Saccharins.

Nachdem die Ausziehung mit Petroläther beendet ist, läßt man die im Scheide- trichter gebliebene Flüssigkeit in eine Retorte fließen, entfernt aus ihr durch Abdestillieren über direkter Flamme den Alkohol vollständig und bringt den noch warmen Rückstand in einen Scheidetrichter, den man durch Übergießen von kaltem Wasser abkühlt. Wenn die Flüssigkeit vollständig abgekühlt ist, säuert man sie mit 10 ccm 10⁰/₀-iger Schwefelsäure an, und schüttelt sie sodann mit etwa 70—80 ccm einer Mischung von gleichen Teilen Äthyläther und Petroläther aus. Auch in diesem Falle entsteht keine dauernde Emulsion und die Flüssigkeiten trennen sich rein und schnell in zwei Schichten. Man wiederholt diese Behandlung noch zweimal mit der Äthermischung und wäscht jedesmal — oder nur einmal, nachdem die drei ätherischen Auszüge vereinigt sind — die Flüssigkeit mit 5—6 ccm Wasser, um sie von jeder Spur Säure zu befreien. Darauf filtriert man die ätherische Substanz durch ein doppeltes Filter, destilliert auf dem Wasserbade die so erhaltene ätherische Flüssigkeit bis auf etwa 20 ccm ab, bringt den Rückstand in eine kleine Glasschale und dampft darauf langsam auf dem Wasserbade ab, indem man auch die kleine Menge der Äthermischung beifügt, mit der man den Destillations- kolben ausgewaschen hat. Auf diese Weise ist es uns in der Mehrzahl der Fälle gelungen, das Saccharin gut krystallisiert in perlmutterartigen Blättchen, kaum oder gar nicht gefärbt, zu erhalten, also in einem Zustande, wie es nicht nur zu seiner Identifizierung, sondern auch zur quantitativen Bestimmung dienen kann. Die Identifizierung geschieht entweder durch die Geschmacksprobe, welche das sicherste und empfindlichste Mittel ist, oder durch die Schmelzpunktbestimmung, oder aber durch den Nachweis des organischen Schwefels, der zunächst, wie wir nun beschreiben werden, in Magnesiumsulfid übergeführt wird.

Im Falle, daß der letzte Auszug durch die Äthermischung etwas gefärbt war oder aber mit einer kleinen Menge Fremdsubstanzen vermenget war, wird er in der Weise gereinigt, daß man ihn mit wenigen ccm Alkohol aufnimmt, das Saccharin mit einigen Tropfen Kalilauge verseift, einige ccm Chlornatriumlösung und eine zwei- bis dreifache Menge Wasser hinzugibt, und endlich in einem kleinen Scheidetrichter ein- oder zweimal mit Petroläther extrahiert. Läßt man dann die alkoholisch-salzige

Flüssigkeit in eine kleine Retorte abfließen, befreit sie durch Destillation vom darin enthaltenen Alkohol, säuert mit 4—5 ccm 10 %-iger Schwefelsäure an und schüttelt nun mit der Äthermischung, so erhält man nach der Verdunstung des Lösungsmittels das Saccharin vollkommen weiss und krystallinisch.

Durch sorgfältiges Arbeiten in der beschriebenen Weise ist es uns immer gelungen, bei der Untersuchung der verschiedenen oben angegebenen Nahrungsmittel, welche vorher von uns mit Saccharinlösungen von bekanntem Gehalt versetzt waren, sowohl qualitativ als quantitativ gute Ergebnisse zu erzielen. Wir werden demnächst in einer besonderen Schrift ausführlich die analytischen Ergebnisse der einzelnen Untersuchungen bei den verschiedenen versüßten Produkten wiedergeben. Hier begnügen wir uns mit der Wiedergabe der nachfolgenden beiden wichtigsten Ergebnisse:

Was die qualitative Probe anbelangt oder die Empfindlichkeit unserer Untersuchungsmethode, so konnten wir bei der Zugabe von 0,0035 g Natriumsaccharinat zu 75 ccm Milch so viel Saccharin gewinnen, daß es vollkommen für die einzelnen oben angegebenen Reaktionen genügte, besonders für die Geschmacksprobe.

Bei der quantitativen Bestimmung erhielten wir aus 75 ccm Milch, der 0,035 g Natriumsaccharinat zugefügt waren, 0,030 g Saccharin wieder, d. h. fast die theoretische Gesamtmenge des in dem Saccharinat enthaltenen Saccharins.

Nachweis und Bestimmung des Dulcins.

Neben dem Saccharin und seinen Salzen findet man im Handel auch als künstlichen Versüßungsstoff das Dulcin oder Sucrol, das das Paraphenetolcarbamid ist $\left(\text{C}_2\text{H}_5\text{O} \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \begin{smallmatrix} \text{NHCO} \\ \text{NH}_2 \end{smallmatrix} \right)$. Dieses Produkt wird aber im Handel fast nicht mehr verwendet, weil es bei seiner viel geringeren Süßkraft gegenüber dem Saccharin doch vom Gesetze ebenso behandelt wird. Da aber der Fall vorkommen kann, daß man es nachweisen und bestimmen muß, haben wir auch bei ihm Untersuchungen mit unserer Methode ausgeführt, indem wir in gleicher Weise wie bei dem Saccharin verfahren. Bei der Untersuchung einer mit Dulcin versetzten Milch, bei der wir genau in der oben beschriebenen Weise verfahren, erhielten wir sowohl für die erste Ausziehung der Substanz, wie auch für die folgende Ausscheidung derselben nachstehende Ergebnisse:

1. Bei der letzten Ausziehung des Süßstoffes durch die ätherischen Lösungsmittel ist, wenn man reinen Äthyläther anwendet, das Ansäuern der wässrig-salzigigen Lösung, welche den Süßstoff enthält, nicht erforderlich, weil der Äthyläther das gesamte Dulcin auflöst und entfernt, da es sich als Amid und nicht als Salz in der Lösung befindet, wie dies unter denselben Verhältnissen beim Saccharin der Fall ist.

2. Wenn man die Extraktionsflüssigkeit mit Schwefelsäure ansäuert, d. h. in derselben Weise wie bei der Saccharinausschüttelung verfährt, so extrahiert der reine Äthyläther das ganze Dulcin sehr gut, ebenso wie es eine Mischung aus gleichen Teilen von Äthyläther und Benzol tut, wie Bianchi und Di Nola gezeigt haben. Dagegen läßt sich durch eine Mischung von Äthyl- und Petroläther das Dulcin nur wenig und sehr schwierig und durch Petroläther allein gar nicht ausziehen.

Dieses verschiedene Verhalten des Dulcins und des Saccharins gegenüber den Lösungsmitteln gestattet sowohl beide Süßstoffe zu trennen, wie auch beide einzeln

quantitativ zu bestimmen, wenn sie zusammen in demselben Nahrungsmittel vorhanden sein sollten. Um diese Trennung auszuführen, genügt es, die beschriebene Methode genau bis zur letzten Extraktion anzuwenden, d. h. bis zur Trennung des Süßstoffes mit der Äthermischung. Hier ist die Extraktion ohne anzusäuern mit Äthyläther allein auszuführen. Auf diese Weise erhält man durch wiederholte Behandlung das ganze Dulcin, da es als Amid vorhanden und somit genügend im Äthyläther löslich ist, während das als Salz vorhandene Saccharin nicht ausgezogen wird. Das ausgezogene Dulcin kann gewogen und identifiziert werden.

Das in der Flüssigkeit noch vorhandene Saccharin kann darauf nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure durch Extraktion in der oben (S. 492) angegebenen Weise gewonnen werden.

Unterscheidung von Saccharin und Dulcin.

Die spezifischen Reaktionen, durch welche man diese beiden Süßstoffe unterscheiden und erkennen kann, sind folgende:

1. Beiden gemeinsam ist der äußerst süße Geschmack, welcher hartnäckig und unangenehm im Munde anhält, der aber beim Saccharin viel stärker ist. Dieses Kennzeichen halten wir für das entscheidendste und empfindlichste zur Feststellung beider Süßstoffe.

2. Der Schmelzpunkt des Saccharin ist 223° , der des Dulcins 173° .

3. Eine spezifische Reaktion des Saccharins beruht auf dem Nachweis des Schwefels, da es ja ein Benzoessäuresulfimid ($C_6H_4 \cdot CO \cdot SO \cdot NH$) ist.

Wir weisen diesen Schwefel auf eine Weise nach, welche uns als die einfachste und empfindlichste erscheint, und die wir hier zum ersten Male beschreiben:

In ein 5—6 cm langes und etwa 2 cm weites Röhrchen bringt man $\frac{1}{2}$ g Magnesiumpulver und setzt diesem etwas von dem krystallinischen Rückstand, den man durch die Behandlung mit der Äthermischung bekommen hat, zu. Nachdem alles an den Boden gebracht ist, faßt man das Röhrchen mit einer Zange und erwärmt es vorsichtig am Boden bei fortwährendem Schütteln. Nach kurzer Zeit entzündet sich das Magnesium mit leichter Explosion, wobei es sich mit dem Schwefel zu Magnesiumsulfid verbindet, welches in der kohligen Masse verteilt bleibt. Man legt nun das Röhrchen in ein kleines Becherglas mit etwa 40 ccm Wasser, rührt mit einem Glasstabe und filtriert. Zum Filtrate gibt man einige Tropfen einer frischen Lösung von Nitroprussidnatrium. Eine dabei entstehende starke Violett-färbung, die charakteristisch für die Anwesenheit von Sulfiden in der Flüssigkeit ist, läßt auf die Gegenwart von Saccharin schließen.

4. Die spezifische Reaktion des Dulcins. Eine kleine Menge Dulcin suspendiert man in wenig Wasser in einem Porzellanschälchen und gießt darauf 7—8 Tropfen von Quecksilbernitratlösung, welche frei von Salpetersäure ist. Dann erhitzt man eine Viertelstunde auf dem siedenden Wasserbade; hierbei ruft Dulcin eine schwache Violett-färbung hervor, welche noch stärker wird, wenn man eine kleine Menge Bleisuperoxyd beifügt.

Das beschriebene Verfahren ist gewiß nicht kompliziert und es liefert doch zuverlässige Ergebnisse. Wir behalten uns vor, unsere Mitteilungen zu ergänzen durch weitere Forschungen über die Löslichkeit des Saccharins und des Dulcins, sowohl in freiem Zustande wie als Salze in den einzelnen Lösungsmitteln, mit denen sie während der einzelnen Phasen des Prozesses behandelt werden.