dunkelblaue α -Naphthyl-azo- α -naphthyl-p-hydrazinsulfonsäure aus-
schied. Dieselbe wurde abfiltriert, in eine wässrige Lösung von
Kaliumacetat eingetragen und zu dieser Mischung so viel Wasser
hinzugesetzt, daß das gebildete Kaliumsalz beim Erwärmen auf
dem Wasserbade eben in Lösung ging. Die Lösung wurde heiß
filtriert und nach dem Abkühlen zur Ausscheidung der freien
Hydrazinsulfonsäure Salzsäure hinzugegeben. Die Sulfonsäure
wurde nach dem Abfiltrieren und Auswaschen mit Wasser im
Vakuummexsikkator bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

0,150 g Substanz gaben 0,0886 g BaSO_4 entsprechend 0,0122 g
S = 8,13%.

Berechnet auf die Formel

S = 8,16%

Gefunden:

8,13%

Mitteilung aus dem pharmazeutisch-chemischen Institute der Herzoglich Technischen Hochschule in Braunschweig.

Von H. Beckurts.

Ueber die Bestimmung der Xanthinbasen in Kakao und Schokolade.

Von A. Prochnow.

(Eingegangen den 30. XI. 1909.)

In den Vereinbarungen ist zur Bestimmung der Xanthin-
basen in Kakao das Verfahren von A. Hilger und A. Eminger¹⁾
vorgeschlagen worden. Dieses Verfahren ist unter Berücksichtigung
der Tatsache ausgearbeitet, daß Theobromin in den Kakaobohnen
nicht frei enthalten ist, sondern das Spaltungsprodukt eines
Glykosides darstellt. Zur Spaltung dieses Glykosides erwies sich
Kochen mit 4% iger Schwefelsäure als zweckmäßig. A. Eminger²⁾
hat eine größere Zahl von Theobrominbestimmungsmethoden im
Jahre 1896 einer vergleichenden Untersuchung unterzogen, so die
Methoden von Wolfram³⁾, Zipperer⁴⁾, Diesing⁵⁾, Süß⁶⁾,

¹⁾ Forschungsbericht 1894, I, 292.

²⁾ Ebenda 1896, 275.

³⁾ Jahresbericht der Zentralstelle f. öffentliche Gesundheits-
pflege 1879.

⁴⁾ Preisschr. über Kakao und dessen Präparate 1887.

⁵⁾ Dissertation, Erlangen 1896.

⁶⁾ Ztschr. f. analyt. Chem. 1893, 57.

Kunze¹⁾ und Beckurts²⁾, in Verfolg derer er der obigen Methode den Vorzug gegeben hat. In den folgenden Jahren hat die Zahl der für die Theobrominbestimmung vorgeschlagenen Methoden eine weitere Anreicherung erfahren. Dieselben sind von Dekker³⁾ einer sorgfältigen kritischen Bearbeitung unterzogen. Dessen Methode haben Welmans⁴⁾, sowie Beckurts und Fromme⁵⁾, auch Katz⁶⁾ kritisch beleuchtet, und in den neuen Vorschlägen, welche Beckurts⁷⁾ der freien Vereinigung Deutscher Nahrungsmittel-Chemiker im Sommer 1906 in Nürnberg machte, ist ein von Fromme und Beckurts ausgearbeitetes Verfahren in Vorschlag gebracht worden.

Dekker³⁾ tadelt an den vorgeschlagenen Methoden zur Theobrominbestimmung im Kakao die Verwendung von Baryt, Aetzkalk oder Bleioxyd, welche zersetzend auf die Xanthinbasen wirken oder dieselben in eine in Chloroform unlösliche Form überführen, sowie die Schwierigkeit vollkommener Entfettung, infolge derer die erhaltenen Basen fetthaltig und endlich, daß diese mehr oder weniger stark gefärbt und nicht aschefrei sind; auch soll die vollkommene Erschöpfung des Rückstandes erst nach Tagen erfolgen.

Nach dem Verfahren von Hilger und Emingen arbeitet man in folgender Weise:

Eine genau gewogene Menge Kakaopulver (ca. 20 g) wird in einem Kolben mit Petroläther (300 g auf 20 g Kakaopulver) übergossen und der Kolben unter öfterem Umschütteln ungefähr zwölf Stunden stehen gelassen. Der auf diese Weise von der Hauptmenge des Fettes befreite Kakao wird getrocknet, gewogen, und davon am besten die Menge in Arbeit genommen, die 10 g fett- und wasserhaltigem Kakao entspricht. Zur Spaltung des Glykosides kocht man nun mit 100 g einer 3—4%igen Schwefelsäure von bekanntem Gehalt am Rückflußkühler bis zur Bildung des Kakao-rot, was meist $\frac{1}{2}$ Stunde in Anspruch nimmt. Den Inhalt des Kolbens spült man dann in ein Becherglas und neutralisiert in der Hitze mit der zuvor berechneten Menge Baryumhydroxyd. Das

¹⁾ Ebenda 1894, 1.

²⁾ Arch. d. Pharm. 1893, 687.

³⁾ Schweiz. Wochenschr. f. Chem. u. Pharm. 1902, 527.

⁴⁾ Pharm. Ztg. 1902, 798.

⁵⁾ Apoth.-Ztg. 1903, 594.

⁶⁾ Pharm. Ztg. 1903, 784.

⁷⁾ Ztschr. für die Untersuchung d. Nahr.- und Genußmittel 1906, II., 63; dies. Zeitschr. 1906, 486.

Ganze wird dann in einer Schale, deren Boden mit Quarzsand belegt ist, abgedampft. Der Rückstand wird mit 150 g Chloroform im Soxhlet-Apparat extrahiert. — Das Chloroform wird abdestilliert und der Rückstand eine Stunde lang bei 100° getrocknet. Hierauf wäscht man mit Tetrachlorkohlenstoff, und zwar höchstens mit 100 g, indem man den Kolben eine Stunde unter häufigem Umschütteln stehen läßt. Dabei geht das Fett mit dem Koffein in Lösung. Diese Lösung wird durch Destillation von dem Tetrachlorkohlenstoff befreit, der erhaltene Rückstand mit siedendem Wasser wiederholt ausgekocht, die wässrige Lösung in einer gewogenen Schale eingedampft und die Schale mit Rückstand gewogen (Koffeinmenge). Das Theobromin, das sich noch im Kolben befindet, sowie das Filter, durch welches filtriert wurde, werden ebenfalls mit Wasser ausgekocht, die Lösung wird filtriert und so das Theobromin nach dem Verdampfen des Wassers frei von allen Beimengungen gewonnen.

Nach der Dekker'schen Methode beschickt man einen Kolben, welcher 250 ccm Wasser enthält, mit 10 g Kakaopulver und 5 g Magnesiumoxyd und spült Trichter und Uhrglas (zum Abwägen und Einbringen benutzt) mit 50 ccm Wasser nach. Die Masse wird eine Stunde am Rückflußkühler erhitzt, noch heiß filtriert, am besten mittels Wasserstrahlluftpumpe abgesaugt, und der Rest noch einmal mit 150 ccm Wasser $\frac{1}{4}$ Stunde gekocht und filtriert. Das leicht gelb gefärbte Filtrat wird mit Seesand auf dem Wasserbade eingedampft und der Rückstand sehr fein pulverisiert. Dieses Pulver wird dreimal mit je 100 ccm Chloroform am Rückflußkühler gekocht, das Chloroform noch warm filtriert und abdestilliert, und nach halbstündigem Trocknen bei 100° werden die Basen wasserfrei gewogen.

In demselben Handelskakao fand Dekker 1,69 und 1,73% Theobromin und Koffein. Als Trennungsmethode beider Basen empfiehlt Dekker das bereits von Weigmann zu diesem Zwecke angewandte Benzol, in welchem sich Theobromin erst im Verhältnis 1:100000 löst.

An dem Dekker'schen Verfahren haben Welmans¹⁾ und Fromm²⁾ Kritik geübt.

Das Auswaschen des mit gebrannter Magnesia gekochten Kakaos ist nicht durchführbar, schon beim erstmaligen Abfiltrieren der Flüssigkeit wird diese eher kalt, als sie vom Rückstande ge-

¹⁾ Pharm. Ztg. 1902, 798 u. 858.

²⁾ Apoth.-Ztg. 1903, 594.

trennt werden kann. Bei wiederholtem Kochen wird die Flüssigkeit schleimig. Die vorgeschriebene Wassermenge und ebenso die vorgeschriebene Menge Magnesia sind zu gering bemessen, die erhaltenen Basen sind nicht aschefrei.

W e l m a n s hat einige wichtige Abänderungen an dem D e k k e r'schen Verfahren vorgeschlagen. Er nimmt 5 g Kakao, 5 g Magnesia, 300 g Wasser, kocht $\frac{5}{4}$ Stunden, läßt bei kleiner Flamme absetzen und filtriert, dekantiert dann zweimal mit je 200 ccm Wasser. Den Rückstand kocht er nochmals mit 2 g Magnesia, filtriert und dekantiert wieder zweimal mit heißem Wasser. Als Filtriervorrichtung benutzt W e l m a n s einen mit Glaswolle und Asbest beschickten Platinkonus. Der nach dem Verdampfen des Wassers verbliebene Rückstand wird mit Sand verrieben und viermal mit Chloroform je $\frac{1}{2}$ Stunde gekocht, das Chloroform jedesmal abdestilliert.

Aber auch in dieser Form — so weist F r o m m e nach — haften dem Verfahren verschiedene Mängel an. Die später abzudampfende Wassermenge ($1\frac{1}{2}$ l!) ist zu groß. Das Auswaschen des Kakaos verursacht häufig Schwierigkeiten. Sobald Stärke und Zucker zugegen sind, ist auf eine quantitative Filtration der kalten Magnesiaabkochung überhaupt nicht mehr zu rechnen. Wenn Zucker gegenwärtig ist, so hinterbleibt beim Verdunsten des wässerigen Filtrats auch mit Sand eine so zähe und hygroskopische Masse, daß behufs Pulverung selbst ein heißer Mörser nur schwer über diese Schwierigkeit hinweghilft. Endlich muß nach diesem Verfahren der Aschengehalt der Basen bestimmt werden, weil fein zerriebener Sand nur zu leicht durchs Filter geht. — F r o m m e arbeitete nun gemeinsam mit B e c k u r t s ein Verfahren aus, das verhältnismäßig einfach ist und auch bei stärke- und zuckerhaltigen Kakaos reine Xanthinbasen liefern soll. F r o m m e akzeptierte den Vorschlag von W e f e r s - B e t t i n k, durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure den störenden Einfluß der Stärke zu beseitigen.

Das Verfahren von F r o m m e - B e c k u r t s ist folgendes:

6 g gepulverter Kakao bzw. 12 g gepulverte Schokolade werden mit 200 g einer Mischung von 197 g Wasser und 3 g verdünnter Schwefelsäure in einem tarierten Literkolben am Rückflußkühler $\frac{1}{2}$ Stunde lang gekocht. Hierauf fügt man weitere 400 g Wasser und 8 g damit verriebene Magnesia hinzu und kocht noch eine Stunde.

Nach dem Erkalten wird das verdunstete Wasser genau ergänzt. Man läßt darauf kurze Zeit absetzen und filtriert 500 g

entsprechend 5 g Kakao bzw. 10 g Schokolade ab, verdunstet das Filtrat für sich oder in einer Schale, deren Boden mit Quarzsand belegt ist, zur Trockne. — Sofern das Filtrat ohne Quarzsand verdunstet wurde, wird der Rückstand mit einigen Tropfen Wasser verrieben, mit 10 ccm Wasser in einen Schüttelzylinder gebracht und achtmal mit je 50 ccm heißen Chloroforms ausgeschüttelt. Das Chloroform wird durch ein trockenes Filter in ein tariertes Kölbchen filtriert, das Filtrat durch Destillation von Chloroform befreit, der Rückstand (Theobromin und Koffein) bei 100° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und gewogen. Man kann auch den Rückstand mit etwas Wasser verreiben und mit 25 ccm des-selben in einem geeigneten Perforator auf Chloroform schichten und mit letzterem 6—10 Stunden perforieren. — Ist das Filtrat über Quarzsand zur Verdunstung gebracht, so kann man den fein verriebenen Rückstand in einem geeigneten Extraktionsapparat mit Chloroform bis zur Erschöpfung ausziehen. Zur Trennung von Theobromin und Koffein schlägt F r o m m e das Verfahren von E m i n g e r mittels Tetrachlorkohlenstoff vor.

An dem F r o m m e'schen Verfahren hat K a t z¹⁾ Kritik geübt. Er hält dasselbe für das beste, empfiehlt jedoch zur Extraktion phenolhaltiges Chloroform, da sich Phenol als ausgezeichnetes Lösungsmittel für Theobromin erwiesen hat. (Ein Teil Theobromin ist in zwei Teilen Phenol löslich.) Ohne Zusatz von Phenol hält K a t z ein quantitatives Wiedergewinnen des Theobromins für ausgeschlossen, da dasselbe durch die Chloroformdämpfe bei Anwendung eines Perforators mitgerissen werden soll und sich an den Kniestellen desselben abzuschneiden pflegt. — Zur Extraktion sei allein der Perforator geeignet, das Ausschütteln mit Chloroform sei zu umständlich. — Eine Extraktion der Trockensubstanz im Soxhlet-Apparat, sowie das Auskochen gebe zu niedrige Resultate. K a t z will bei der Kritik der T h ä t e r'schen Santoninbestimmung und auf der Naturforscherversammlung zu Karlsbad gelegentlich einer Besprechung der Koffeinbestimmungen darauf hingewiesen haben, daß der Perforator in vielen Fällen den Vorzug vor dem Soxhlet'schen Extraktionsapparat verdient. F r o m m e sowohl wie K a t z haben Perforatoren konstruiert, die im allgemeinen bekannten Prinzip übereinstimmen. F r o m m e empfiehlt das Anbringen eines Glashahnes, um das gesamte Chloroform nach vollendeter Perforation im Kolben zu sammeln, während K a t z, sein Augenmerk auf eine möglichst schnelle Perforation richtend,

¹⁾ Pharm. Ztg. 1903, 784.

eine Spindel in das Innere des Perforators schiebt, um die die Chloroformtropfen kreisen und dadurch möglichst lange in Berührung mit der wässrigen Flüssigkeit bleiben. *Fromme* gewann 0,78 g Theobromin, mit Wasser angerieben nach 6 Stunden ohne Verlust wieder, *Katz* 0,321 g Theobromin in seinem Perforator mit Hilfe von Phenol in 2½ Stunden. *Fromme* schlägt deshalb eine neun- bis zehnstündige Perforation vor, *Katz* nur eine dreistündige. Dabei will *Fromme* beobachtet haben, daß Theobromin, in reinem Wasser suspendiert, nicht so leicht extrahiert wird, als wenn es sich in der Extraktlösung vom Kakao befindet.

Ich habe die Verfahren von *Hilger-Eminger*, *Dekker-Welmans*, *Beckurts-Fromme* und deren Abänderung durch *Katz* einer kritischen Durchsicht unterzogen und an der Hand von Analysen die beste Methode, wie auch vor allem das beste Extraktionsverfahren festzulegen versucht. Dabei ist vor allem dem Praktischen, Einfachen der Methoden gebührend Beachtung geschenkt worden.

Kritik der Hilger-Eminger'schen Methode.

Ich machte zwei Bestimmungen nach der Methode von *Hilger* und *Eminger* mit je 10 g Kakao. Bei der ersten Bestimmung erhielt ich nach zehnstündiger Extraktion im Soxhlet-Apparat 0,778, bei der zweiten 0,816 g Rohbasen. Infolge der verhältnismäßig geringen Gewichtszunahme nach weiterer zweistündiger Extraktion von 2 mg (0,78 g Rohbase) resp. 3 mg (0,819 g Rohbase) begnügte ich mich mit einer zwölfstündigen Extraktion. Die Rohbasen waren außerordentlich fetthaltig. In dem einen Falle verloren 0,78 g nach vorsichtigem Ausschütteln des Extraktionskölbchens mit 4 ccm Petroläther (Löslichkeit des Theobromins in fetthaltigem Petroläther 1:50000) und Absaugen des Petroläthers mittels Filtrierpapierstreifens 0,605 g an Gewicht, es blieben 0,175 g annähernd fettfreie Basen zurück. — Im zweiten Falle wurden wie vorgeschrieben Theobromin und Koffein durch Tetrachlorkohlenstoff getrennt und 0,138 g Theobromin und 0,011 g Koffein erhalten, demnach an reinen Gesamtbasen 0,149 g.

Abgesehen von den von *Dekker* schon gerügten Fehlern dieser Methode, der vorhergehenden Entfettung des Materials und dem zersetzenden Einflusse überschüssigen Baryumhydroxyds, ist es ein großer Nachteil der Methode, daß nach dem Extrahieren mit Chloroform eine stark fetthaltige Base resultiert, die in jedem Falle erst gereinigt werden muß. Da in den meisten Fällen die Angabe des Gesamtgehaltes an Basen genügt, ist die getrennte Be-

stimmung von Theobromin und Koffein überflüssig und nur zeitraubend. An Gesamtbasen wurden nach der Hilger-E m i n g e r'schen Methode nur 0,149 g in 10 g Kakao gefunden, während nach den weiter unten kritisierten Methoden weit mehr Theobromin und Koffein gefunden wurde. An dem niedrigen Resultat mögen die bereits von D e k k e r gerügten Fehler der Methode schuld sein, ferner bringt die Reinigung der Basen weitere kleine Ungenauigkeiten leicht mit sich, vor allen Dingen aber wird die S o x h l e t'sche Extraktionsmethode von der F r o m m e - K a t z'schen Perforationsmethode übertroffen, wie später nachgewiesen werden wird.

Kritik der Methode Dekker-Welmans.

Ich führte nach der D e k k e r'schen, von W e l m a n s abgeänderten Methode zwei Bestimmungen in je 5 g Kakao aus, und zwar wurde bei der ersten Bestimmung der Kakaoextrakt wie vorgeschrieben mit Chloroform viermal ausgekocht. Durch das vierte Auskochen gewann ich nur noch 1 mg Xanthinbasen, demnach war der Rückstand erschöpft. Ich erhielt durch Auskochen 0,1014 g Gesamtbasen in 5 g Kakao.

Bei der zweiten Bestimmung extrahierte ich den mit Sand verriebenen Kakaoextrakt wieder im Soxhlet-Extraktionsapparat und erhielt nach zehnstündiger Extraktion 0,1094, nach zwölfstündiger 0,1114 g Xanthinbasen, Resultate, die nicht unbedeutend voneinander abweichen. Durch Extraktion mittels Soxhlet-Apparates erhielt ich demnach mehr Basen, als mittels der Auskochmethode, eine Tatsache, die eher für die Verwendung des Soxhlet-Apparates, als gegen dieselbe sprechen könnte. Daß beide Methoden zu verwerfen sind, werden wir später sehen.

Um die erhaltenen Basen auf den annähernden Fettgehalt zu prüfen, schüttelte ich die Kölbchen wieder mit je 4 ccm Petroläther, den ich wieder vorsichtig mit Hilfe eines Filtrierpapierstreifens entfernte, aus.

0,1014 g Xanthinbasen verloren an Gewicht 0,012 g (Fett),
0,1114 g Xanthinbasen verloren an Gewicht 0,025 g (Fett).

Der Aschengehalt betrug im ersten Falle 0,0049 g, im zweiten Falle 0,0014 g.

Demnach erhielt ich 0,0845 und 0,085 g aschefreie und annähernd fettfreie Basen.

Wenn diese Endresultate auch gut übereinstimmen, so ist dennoch die D e k k e r - W e l m a n s'sche Methode vielfach mangelhaft. Die erhaltenen Basen sind gefärbt, nicht fettfrei und

bedürfen der Reinigung. Da der angewandte Quarzsand zu leicht durch das Filter geht, wird eine Aschebestimmung notwendig. — Auch fand ich die von Fromme geübte Kritik berechtigt. Das Filtrieren der Abkochungen erwies sich als nahezu unmöglich, nur dadurch, daß ich häufig absetzen ließ und die angewandte mit Asbest beschickte Filtrierplatte zuweilen durchstach, erhielt ich einigermaßen klare Lösungen. — Das Eindampfen der großen Wassermenge empfand ich als sehr zeitraubend.

Schließlich wird nicht allein die Soxhlet'sche Extraktionsmethode, sondern auch die Auskochmethode, wie unten nachgewiesen werden wird, durch die Fromme-Katz'sche Perforationsmethode durch Genauigkeit, Einfachheit und Schnelligkeit übertroffen.

Kritik der Methode nach Fromme-Beckurts mit der Abänderung von Katz.

Ich führte nach dieser Methode eine größere Anzahl von Bestimmungen aus, da ich nicht nur dieselbe auf ihre Brauchbarkeit prüfen, sondern auch gleichzeitig entscheiden wollte, welches Extraktionsverfahren das beste ist. Ferner suchte ich festzustellen, ob verschiedene Mengen des von Hilger und Eming er und von Dekker-Welmans zum Eindampfen des Kakaoextraktes benutzten Sandes verschiedene Resultate zur Folge haben. Bei den bisher gemachten Bestimmungen war regelmäßig 10 g Sand verwendet worden.

Ich isolierte demnach die Basen aus dem Kakaoextrakt, indem ich von dem von Fromme ebenfalls vorgeschlagenen Ausschütteln mit Chloroform im Schüttelzylinder absah,

- I. durch Auskochen mit Chloroform (nach Dekker-Welmans),
- II. durch Extraktion mittels Soxhlet-Apparates,
- III. durch Perforation nach Fromme,
- IV. durch Perforation nach Katz.

I. Auskochen mit Chloroform.

a) Eine abgewogene Menge Theobromin, 0,124 g, wurde mit 20 g Sand verrieben und viermal, je $\frac{1}{2}$ Stunde, mit 100 ccm Chloroform ausgekocht. Nach Abzug des Aschengehaltes wurden erhalten 0,123 g Theobromin. Durch diesen Versuch wurde der Beweis erbracht, daß es möglich ist, einem Gemisch mit Sand das Theobromin quantitativ zu entziehen. — Ein viermaliges Auskochen genügte hier ebenso, wie bei der früher ausgeführten Bestimmung

nach Dekker-Weimans. Auch bei den unten folgenden Bestimmungen mittels Auskochens blieb nach dem vierten Auskochen das Gewicht regelmäßig konstant.

Es folgt nunmehr eine Anzahl Analysen, deren Besprechung bei der Kritik der gesamten Extraktionsmethoden erfolgen soll. — Die Analysen wurden nach Vorschrift mit 5 g van Houten'schen Kakao ausgeführt.

A n a l y s e I.

Kakaoextrakt mit 60 g Quarzsand eingedampft:

Erhaltene Basenmenge	0,0870 g	} Fettgehalt 0,0035 g Aschengehalt 0,0038 g
Nach Behandlung mit 4 cem Petroläther blieben	0,0835 g	
Nach Abzug der Asche	0,0797 g	

A n a l y s e II.

Kakaoextrakt mit 20 g Quarzsand eingedampft:

Erhaltene Basenmenge	0,0986 g	} Fettgehalt 0,0048 g Aschengehalt 0,0050 g
Nach Behandlung mit 4 cem Petroläther blieben	0,0938 g	
Nach Abzug der Asche	0,0888 g	

A n a l y s e III.

Kakaoextrakt mit 10 g Quarzsand eingedampft:

Erhaltene Basenmenge	0,0945 g	} Fettgehalt 0,0030 g Aschengehalt 0,0012 g
Nach Behandlung mit 4 cem Petroläther blieben	0,0915 g	
Nach Abzug der Asche	0,0903 g	

A n a l y s e IV.

Kakaoextrakt mit 10 g Quarzsand eingedampft:

Erhaltene Basenmenge	0,0982 g	} Fettgehalt 0,0020 g Aschengehalt 0,0030 g
Nach Behandlung mit 4 cem Petroläther blieben	0,0962 g	
Nach Abzug der Asche	0,0932 g	

II. Extraktion im Soxhlet-Apparat.

a) Eine abgewogene Menge Theobromin, 0,128 g, wurde mit 10 g Sand verrieben und im Soxhlet-Apparat extrahiert; nach 10 Stunden wurden 0,122 g wiedergewonnen, nach 12 Stunden wieder 0,122 g, nach Abzug der Asche betrug die Theobrominmenge 0,121 g.

b) Von einer anderen ebenfalls abgewogenen Menge Theobromin, 0,098 g, die ebenso behandelt wurde, wurde nach 10 Stunden 0,09 g, nach 12 Stunden 0,092 g wiedergewonnen, nach Abzug der Asche betrug die Menge Theobromin 0,0912 g.

Wie aus den obigen Resultaten ersichtlich, betrug die Zunahme nach zwölfstündiger Extraktion gegenüber einer zehn-

stündigen kaum einige Milligramm, dasselbe war bei den unten ausgeführten Analysen der Fall.

In 5 g Kakao wurden folgende Mengen Xanthinbasen gefunden:

A n a l y s e I.

Kakaoextrakt mit 30 g Quarzsand eingedampft:

Nach zwölfstündiger Extraktion erhaltene Basenmenge	0,0755 g	Fettgehalt 0,0004 g
Nach Behandlung mit 4 ccm Petroläther blieben	0,0751 g	
Nach Abzug der Asche	0,0743 g	Aschengehalt 0,0008 g

A n a l y s e II.

Kakaoextrakt mit 10 g Quarzsand eingedampft:

Nach zwölfstündiger Extraktion erhaltene Basenmenge	0,0920 g	Fettgehalt 0,0035 g
Nach Behandlung mit 4 ccm Petroläther blieben	0,0885 g	
Nach Abzug der Asche	0,0879 g	Aschengehalt 0,0006 g

A n a l y s e III.

Kakaoextrakt mit 10 g Quarzsand eingedampft:

Nach zwölfstündiger Extraktion erhaltene Basenmenge	0,0894 g	Fettgehalt 0,0002 g
Nach Behandlung mit 4 ccm Petroläther blieben	0,0892 g	
Nach Abzug der Asche	0,0882 g	Aschengehalt 0,0010 g

III. Perforation nach Fromme.

0,12 g Theobromin wurden in Wasser gelöst und im Fromme'schen Perforationsapparat nach 6 Stunden durch Perforieren mit Chloroform ohne Verlust wiedergewonnen.

Aus 5 g van Houten'schem Kakao wurden mittels der Perforationsmethode an Xanthinbasen erhalten:

A n a l y s e I.

Nach sechsstündiger Perforation	0,0842 g	
„ achtstündiger „	0,0998 g	
„ zehnstündiger „	0,1060 g	
„ zwölfstündiger „	0,1070 g	
Nach Behandlung mit 4 ccm Petroläther blieben	0,1060 g	Fettgehalt 0,0010 g
Nach Abzug des Aschengehaltes	0,1052 g	
		Aschengehalt 0,0008 g

Analyse II.

Nach zehnstündiger Perforation	0,1100 g (konstant)	
Nach Behandlung mit 4 ccm Petroläther		Fettgehalt
blieben	0,1090 g	0,0010 g
Nach Abzug des Aschengehaltes	0,1080 g	Aschengehalt
		0,0010 g

IV. Perforation nach Katz.

Von 0,283 g Theobromin wurden nach dreistündiger Perforation im K a t z'schen Perforator durch Perforieren mit Chloroform und Phenol 0,280 g Theobromin wieder erhalten.

Bei Verwendung von 5 g van Houten'schem Kakao wurden folgende Werte erhalten:

Analyse I.

Nach vierstündiger Perforation	0,0920 g	
„ sechstündiger „	0,1080 g	
„ achtestündiger „	0,1080 g	
Nach Behandlung mit 4 ccm Petroläther		Fettgehalt
blieben	0,1080 g	= 0
Nach Abzug des Aschengehaltes	0,1074 g	Aschengehalt
		0,0006 g

Analyse II.

Nach sechstündiger Perforation konstant	0,1100 g	Fettgehalt
Mit 4 ccm Petroläther entfettet	0,1080 g	0,0020 g
Nach Abzug der Asche	0,1072 g	Aschengehalt
		0,0008 g

Entscheiden wir nun zunächst auf Grund der vorliegenden Analysen, ob die Verwendung größerer Mengen Sandes bei dem Auskoch- und Soxhlet-Extraktionsverfahren niedrigere Resultate zur Folge hat als die Verwendung kleinerer Mengen Sandes. — Das ist fraglos der Fall.

Während eine abgewogene und mit Sand verriebene Menge Theobromins durch die Auskochmethode noch quantitativ wiedergewonnen werden konnte, war das bei den gleichen Versuchen unter Anwendung der S o x h l e t - Extraktionsmethode nicht mehr der Fall (Siehe Ia und IIa und b), ein Beweis, daß schon kleine Mengen Sandes bei der S o x h l e t - Extraktionsmethode die völlige Erschöpfung des Inhalts der Extraktionshülse erschweren, wenn nicht überhaupt unmöglich machen können.

Die oben weiter angestellten Versuche gaben folgendes Bild:

Gefunden in 5 g van Houten'schem Kakao.

I. Auskochverfahren.

60 g Sand	0,0797 Xanthinbasen
20 g „	0,0888 „
10 g „	0,0903 und 0,0932 Xanthinbasen.

II. Soxhlet-Extraktionsverfahren.

30 g Sand 0,0743 g Xanthinbasen

10 g „ 0,0879 g und 0,0882 g Xanthinbasen.

Aus diesen Versuchen ist ersichtlich, daß größere Mengen Sandes die Extraktion noch mehr erschweren als kleinere Mengen. Die Anwendung des Sandes ist daher in jedem Falle von Nachteil, dieselbe haben Fromme und Katz durch Anwendung des Perforators umgangen, infolgedessen erhält man auch mit Hilfe desselben höhere Werte, das zeigt uns folgende Tabelle:

	Auskochen mit Chloroform (10 g Sand)		Extraktion im Soxhlet (10 g Sand)		Perforation nach Fromme		Perforation nach Katz	
	g	g	g	g	g	g	g	g
Gewicht der Basen nach erfolgter Ex- traktion	0,0945	0,0982	0,0920	0,0894	0,1070	0,1100	0,1080	0,1100
Fettgehalt	0,0030	0,0020	0,0035	0,0002	0,0010	0,0010	—	0,0020
Aschengehalt	0,0012	0,0030	0,0006	0,0010	0,0008	0,0010	0,0006	0,0008
Reine Basen	0,0903	0,0932	0,0879	0,0882	0,1052	0,1080	0,1074	0,1072
Prozentgehalt an Theo- bromin und Koffein	1,8060	1,8640	1,7580	1,7640	2,1040	2,1600	2,1480	2,1440

Aus vorstehender Tabelle ist ferner ersichtlich, daß der Aschengehalt bei Anwendung von Sand meist so groß ist, daß er berücksichtigt werden muß. Eine Aschenbestimmung wird bei den Methoden I und II immer notwendig sein, da feiner Sand zu leicht durch das Filter geht.

Was nun aber die Perforationsmethode gegenüber den anderen besonders wertvoll macht, ist die Schnelligkeit, mit der sie zu arbeiten gestattet. Der Katz'sche Perforator gestattet ein schnelleres Arbeiten als der Fromme'sche, doch sind 3 Stunden für eine Perforation zu gering bemessen, nur bei einem sehr schnellen Destillieren des Chloroforms könnte diese Zeit genügen. Ich empfehle 6 Stunden bei starkem Kochen des Wasserbades. Die Verwendung von Phenol ist in jedem Falle zu empfehlen. Wenn ich bei dem Fromme'schen Verfahren auch keinen Anflug von Theobromin an den Kniestellen des Perforators bemerken konnte — ich gab in den Kolben 30—40 ccm Chloroform —, so wäre immerhin bei starkem Destillieren ein Mitreißen des Theobromins nicht ausgeschlossen. — Ohne Katz'schen Perforator ist eine zehnstündige Perforation unerlässlich.

Das Perforationsverfahren ist demnach von den vier angeführten Extraktionsverfahren das genaueste, schnellste und

einfachste. — Die Ausführung der Theobrominbestimmungsmethode nach Fromme-Beckurts bis zur Gewinnung des Kakaoextraktes bietet keine Schwierigkeiten. Das Filtrieren geht glatt von statten, die einzudampfenden Wassermengen sind nicht zu groß. Die Methode läßt sich ein wenig beschleunigen dadurch, daß man nach dem zweiten Kochen sofort 30—50 ccm Wasser hinzufügt, umschüttelt und absetzen läßt. Man spart auf diese Weise ein zweites Absetzenlassen. Zur weiteren Behandlung nimmt man dann $\frac{5}{6}$ der durch Wägung gefundenen Flüssigkeit, entsprechend 5 g Kakao. Der große Vorteil der Fromme-Beckurts'schen Methode gegenüber den anderen Methoden ist der, daß man mit ihrer Hilfe fettfreie Basen gewinnt. Wie aus sämtlichen nach diesem Verfahren ausgeführten Analysen ersichtlich ist, verloren die mit Petroläther behandelten Basen nur bei der Auskoch- und Soxhlet-Methode mehr als 2 mg an Gewicht (Höchstverlust 4,8 mg). Ich empfehle daher die Bestimmung der Xanthinbasen nach der Methode von Beckurts-Fromme in der folgenden Ausführung.

6 g gepulverter Kakao oder 12 g gepulverte Schokolade werden mit 197 g Wasser und 3 g verdünnter Schwefelsäure in einem tarierten Literkolben $\frac{1}{2}$ Stunde lang am Rückflußkühler gekocht. Hierauf fügt man mittels der Mensur 400 g Wasser und 8 g damit angeriebene Magnesia hinzu und kocht noch 1 Stunde. Man setzt nun sofort 30—50 g Wasser, entsprechend der etwa verdampften Wassermenge, hinzu, schüttelt gut durch und stellt auf der Wage das Gewicht des Kolbeninhalts abzüglich der Kakao- resp. Schokoladenmenge fest. Man läßt absetzen, filtriert $\frac{5}{6}$ des zuvor festgestellten Gewichtes, entsprechend 5 g Kakao bzw. 10 g Schokolade, durch ein Faltenfilter und dampft diese Flüssigkeitsmenge in einer Porzellanschale bis fast zur Trockne ein. Der Rückstand wird mit so viel Wasser aufgenommen, daß man etwa 25 ccm Flüssigkeit erhält. Man fügt 25 Tropfen verflüssigtes Phenol hinzu und schiebt den Extrakt über das im Katz'schen Perforator befindliche Chloroform. In dem am Perforator befestigten Extraktionskölbchen muß sich ebenfalls eine größere Menge Chloroform befinden. Man perforiert 6 Stunden bei lebhaft siedendem Wasserbade. Wenn man dessen gewiß ist, daß die Perforation ohne Unterbrechung vor sich gegangen ist, ist eine nochmalige Perforation unnötig. Das Chloroform des Extraktionskölbchens wird abdestilliert, die 25 Tropfen Phenol werden aus dem erwärmten Kölbchen vorsichtig mittels Blasebalgs abgeblasen, und der Kolben bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und gewogen.

Nach diesem Verfahren sind in gerösteten und ungerösteten Kakaobohnen, sowie in Kakaoschalen verschiedener Herkunft Theobrominbestimmungen ausgeführt worden.

Es wurden gefunden:

Herkunft	Geröstete Kakaoschalen	Ungeröstete Kakaokerne	Geröstete Kakaokerne
	Theobromin u. Koffein	Theobromin u. Koffein	Theobromin u. Koffein
Ariba	0,900%	1,556%	1,580%
	0,874%	1,550%	1,588%
Bahia	0,755%	1,630%	1,880%
	0,715%	1,640%	1,812%
Caracas	1,380%	1,812%	1,750%
	1,380%	1,800%	1,752%
Guajaquil	0,578%	1,540%	1,748%
	0,580%	1,520%	1,720%
Thomé	1,196%	1,544%	1,536%
	1,218%	1,540%	1,580%
Trinidad	1,276%	1,480%	1,630%
	1,226%	1,460%	1,608%

Darnach schwankt der Gehalt von Theobromin:

in gerösteten Kakaoschalen . . . von 0,578—1,380%

in ungerösteten Kakaokernen .. von 1,460—1,812%

in gerösteten Kakaokernen . . . von 1,536—1,880%