IV. Spezielle analytische Methoden.

1. Auf Lebensmittel und Gesundheitspflege bezügliche.

Von

L. Grünhut.

Die Formoltitrierung in der Nahrungsmittelchemie. Das von S. P. L. Sørensen¹⁾ ursprünglich für physiologisch-chemische Untersuchungen angegebene Verfahren der Formoltitrierung gewinnt auch für die Nahrungsmittelchemie Bedeutung. Ich ergänze die bisher in dieser Zeitschrift enthaltenen, nur knappen Mitteilungen durch nähere Wiedergabe einiger bewährter Arbeitsvorschriften.

Das Verfahren dient zur malsanalytischen Ermittlung der Aminosäuren. Diese bilden offenbar amphotere Ionen, d. h. sie reagieren wegen der gleichzeitigen Gegenwart der basischen Aminogruppe und der sauren Karboxylgruppe weder alkalisch noch sauer. Bindet man aber die Aminogruppe durch Zusatz von Formaldehyd an eine Methylengruppe, so kommt die saure Reaktion der Karboxylgruppe zur Geltung, und die azidimetrische Titrierung wird möglich. Die Reaktion verläuft z. B. für Glykokoll in folgender Weise:

Die Schwierigkeiten, die sich aber auch dann noch beim Titrieren ergeben, fassen J. König und J. Grossfeld²⁾ wie folgt zusammen: Das Verfahren ist zunächst nur anwendbar für neutrale Aminosäuren; viele Aminosäuren reagieren aber nicht ganz neutral, sondern gegen Phenolphthalein sauer. Andererseits sind die Methylenverbindungen offenbar schwächere Säuren als Phenolphthalein, denn bei der Titrierung mit diesem Endanzeiger tritt der Umschlag zu früh ein³⁾, und man muss folglich weiter als bis zur beginnenden Rötung titrieren. Ferner verhalten sich Ammoniumsalze wie die Aminosäuren, weil Ammoniumion durch Formaldehyd in Hexamethylentetramin verwandelt wird, der entsprechende Säurerest also in freie Säure übergeht. Schliesslich wirken schwache anorganische Säuren, wie Kohlensäure und Phosphorsäure, störend beim Titrieren. Die Wirkung der letzteren wird durch Zugabe von Baryumhydroxyd und Baryumchlorid ausgeschaltet.

König und Grossfeld empfehlen folgende Arbeitsweise. 50 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit werden in einem 100 ccm-Messkolben mit 1 ccm Phenolphthaleinlösung (0,5 g in 100 ccm 50%igem Alkohol) und 10 ccm 20%iger Baryumchloridlösung versetzt. Hierauf wird ge-

¹⁾ Vergl. diese Ztschrft. 47, 457 (1908); 49, 66 (1910). — ²⁾ Ztschrft. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genussm. 27, 508 (1914). — ³⁾ Vergl. W. Böttger, Stand und Wege der analytischen Chemie. Stuttgart 1911, S. 32.

sättigte Barytlauge bis zur Rotfärbung und dann noch ein Überschuss von etwa 5 *ccm* hinzugefügt. Nach dem Auffüllen auf 100 *ccm* lässt man 15 Minuten stehen; dann filtriert man durch ein trockenes Filter.

50 *ccm* des rotgefärbten Filtrates neutralisiert man möglichst genau gegen Lackmuspapier bis zur violetten Farbe. Der Umschlag ist nicht sehr scharf; die Endergebnisse sind dennoch ausreichend genau. Man gibt 20 *ccm* 30—40% iger Formalinlösung hinzu, die bis zur schwachen Phenolphthalein-Rosafärbung neutralisiert ist; dann titriert man die Flüssigkeit mit karbonatfreier $\frac{1}{5}$ Natronlauge bis zur Farbenstärke einer Vergleichslösung. Letztere wird in folgender Weise bereitet: 50 *ccm* ausgekochtes Wasser werden mit 20 *ccm* Formalinlösung und 5 *ccm* $\frac{1}{5}$ Natronlauge, sowie 1 oder 2 *ccm* der oben angegebenen Phenolphthaleinlösung versetzt und mit $\frac{1}{5}$ Salzsäure auf schwach rosa titriert; dann werden noch 3 Tropfen $\frac{1}{5}$ Barytlauge zugegeben, so dass starke Rotfärbung eintritt. Ist beim Titrieren der Formol-Aminosäurelösung dieselbe Farbe erreicht, so gibt man noch einige *ccm* $\frac{1}{5}$ Lauge zu und wieder so viel $\frac{1}{5}$ Salzsäure, dass die Farbe schwächer als die der Vergleichslösung erscheint. Schliesslich wird abermals $\frac{1}{5}$ Lauge zugefügt, bis die Farbe wieder erreicht ist. Die Differenz der insgesamt verbrauchten *ccm* $\frac{1}{5}$ Lauge und $\frac{1}{5}$ Säure entspricht dem «Formolstickstoff» (1 *ccm* = 0,0028 *g*). Ist Ammoniak vorhanden, so muss es nach einem der bekannten Verfahren (z. B. Destillieren mit Magnesia) bestimmt, und sein Stickstoffgehalt vom gefundenen Formolstickstoff abgezogen werden; die Differenz entspricht dem Aminosäurestickstoff.

D. Ottolenghi¹⁾ hat sich bei der Untersuchung von Fleischauszügen der von V. Henriques und J. K. Gjaldbæk²⁾ angegebenen Titrierung in 4 Stufen bedient. Man verfährt dabei wie folgt: Die gegen Lackmus neutral gestellte Lösung wird mit $\frac{1}{5}$ Natronlauge auf schwach rosa gegen Phenolphthalein titriert (1. Stufe), dann auf kräftig rot (2. Stufe); darauf gibt man den Überschuss von Formol hinzu, schüttelt gut um, titriert zunächst auf schwach rosa (3. Stufe) und schliesslich abermals auf stark rot (4. Stufe). Die erste Stufe gibt den Unterschied der Neutralitäten gegen Lackmus und Phenolphthalein und ist eine Messung des Neutralitätsvermögens der Untersuchungsflüssigkeit; die Gesamtheit der vier Titrierungen gewährt ein Bild über die vorhandenen Aminosäuren, also z. B. bei hydrolysierten Eiweisskörpern einen Einblick in die vorhandenen Peptid-Bindungen und damit ein Maß für den Grad des Abbaues.

Bei der Formoltitrierung von Fleischextrakt und ähnlichen Erzeugnissen bediente sich K. Micko³⁾ folgender Arbeitsweise. Der Lösung von 3 *g* Fleischextrakt, 5 und mehr *g* Bouillonwürfelmasse, bzw. von etwa 5—6 *g* flüssiger Speisewürze werden 2 *g* Baryumchlorid zu-

1) Ztschrft. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genussm., **26**, 734 (1913). — 2) Ztschrft. f. physiol. Chem., **75**, 363 (1911). — 3) Ztschrft. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genussm., **27**, 493 (1914).

gesetzt. Enthält die Substanz Fett, so wird die Lösung so lange erwärmt, bis das geschmolzene Fett sich auf der Oberfläche gesammelt hat; nach dessen Erstarren filtriert man die Flüssigkeit durch eine mit Glaswolle belegte Porzellanfilterscheibe und wäscht den Rückstand mit Wasser nach. Nach Lösung des überschüssigen Baryumchlorids, sowie nach Zusatz von 1 *ccm* 0,5 %iger Phenolphthaleinlösung (in 50 %igem Alkohol) wird die Flüssigkeit bis zur deutlichen Rotfärbung und noch mit weiteren 5 *ccm* gesättigter Baryumhydroxydlösung versetzt und mit Wasser auf 100 *ccm* verdünnt. Man filtriert, versetzt 80 *ccm* des Filtrates bis zur Neutralität gegen Azolitminpapier mit $\frac{1}{5}$ Salzsäure und bringt abermals auf 100 *ccm*. 20 *ccm* der letzten Lösung werden mit 10 *ccm* neutralisiertem Formol versetzt und mit $\frac{1}{5}$ Lauge bis zur schwachen, aber deutlichen und mindestens 3 Minuten bleibenden Rotfärbung ausitiert.

Zuweilen war die zu titrierende Lösung so dunkel gefärbt, dass der Umschlag nicht hinreichend sicher erkannt werden konnte. Dann wurde der Versuch wiederholt, unter Verdünnung der 20 *ccm* Lösung mit der gleichen Menge Wasser und unter Verwendung von 20 *ccm* Formol. Bei solcher Verdünnung muss mehr von der $\frac{1}{5}$ Natronlauge zugesetzt werden, damit die deutliche Rotfärbung eintritt; doch beträgt der Unterschied nicht mehr als 0,1 *ccm*. Auch bei dieser Arbeitsweise muss natürlich der Gehalt an Ammonverbindungen in Anrechnung gebracht werden.

Chemischer Nachweis beginnender Fleischfäulnis. Bei Versuchen von C. Mai¹⁾ hatte sich ergeben, dass die Menge des Ammoniakstickstoffs, die in frischen Fleischwaren etwa 10 % des Gesamtstickstoffs ausmacht, nach 3—4 Tagen schon eine beträchtliche Steigerung erfährt. Tritt dieses Merkmal ein und tritt Trimethylamin in mehr als spurenhafter Menge auf, so wird die Ware vom chemischen Standpunkte aus als verdorben zu bezeichnen sein.

O. von Fürth und E. Lenk²⁾ glaubten in einem neuen Verfahren zur Feststellung feinerer Veränderungen in der chemischen Zusammensetzung der Muskelflüssigkeit, insbesondere ihres Milchsäuregehaltes, zugleich ein Hilfsmittel zur Erkennung des Alters von Fleischwaren, insbesondere auch zur Erkennung von Gefrierfleisch, gefunden zu haben. Das Verfahren besteht in einer Beobachtung des Quellungsvermögens. Mittels eines Doppelmessers mit festem Klingenabstand werden scharf begrenzte Fleischwürfel ausgeschnitten. Diese werden in Wägegläschen genau gewogen und sodann einzeln in die Quellungsmedien übertragen. Als solche dienen für den vorliegenden Zweck destilliertes Wasser, sowie 5, 10, 15, 20, 25 und 30 %ige Kochsalzlösung. Nach 2 $\frac{1}{2}$ Stunden werden die Würfel vorsichtig mit Hilfe eines Spatels aus der Flüssigkeit gehoben, auf gehärtetes Filtrier-

¹⁾ Ztschrift. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genussm. 4, 18 (1901). — ²⁾ Ztschrift. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genussm. 24, 189 (1912).