

#### IV. Specielle analytische Methoden.

##### 1. Auf Lebensmittel, Gesundheitspflege, Handel, Industrie und Landwirthschaft bezügliche.

Von

**L. Grünhut.**

##### **Nachweis von Pflanzenölen auf Grund ihres Phytosteringehaltes.**

E. Salkowski<sup>1)</sup> hat zuerst die Thatsache, dass die thierischen Fette Cholesterin, die Pflanzenöle jedoch Phytosterin enthalten, zu analytisch-chemischen Unterscheidungen, insbesondere zum Nachweis von Pflanzenölen im Leberthran benutzt. Das hierdurch begründete Verfahren wurde in den letzten Jahren durch A. Bömer einer umfassenden Bearbeitung, insbesondere mit Rücksicht auf den Nachweis des Baumwollsamensöls im Schweineschmalz unterzogen. In seiner ersten Arbeit führt Bömer<sup>2)</sup> aus, dass die Abscheidung des Cholesterins und Phytosterins nach Salkowski's Vorschrift nicht unerhebliche Schwierigkeiten bereitet. Dies ist auch der Grund, weshalb sich das Verfahren in der Fettanalyse bisher nicht einbürgerte. Der Verfasser fand nun, dass sich die lästige Emulsionsbildung bei der Aetherausschüttelung durch einen bestimmt dosirten Alkoholzusatz vermeiden lässt, und er gibt hierzu folgende Vorschrift.

50 g Fett werden in einem Erlenmeyerkolben von etwa 1 l Inhalt auf dem Wasserbade geschmolzen und mit 100 cc alkoholischer Kalilauge<sup>3)</sup> auf dem kochenden Wasserbade am Rückflusskühler verseift. Man schüttelt hierbei anfangs häufig und kräftig um, bis der Kolbeninhalt beim Schütteln klar geworden ist, und erwärmt dann die Seife noch  $\frac{1}{2}$  bis 1 Stunde unter zeitweiligem Umschütteln auf dem Wasserbade. Darauf gibt man die Seifenlösung noch warm in einen Schütteltrichter von 1 bis 1,5 l Inhalt und spült die im Kolben verbliebenen Seifenreste mit 200 cc Wasser in den Schütteltrichter. Nachdem die Seifenlösung hinreichend abgekühlt ist, setzt man 500 cc Aether hinzu und schüttelt den Inhalt etwa  $\frac{1}{2}$  bis 1 Minute unter mehrmaligem Oeffnen des Hahnes oder Stopfens gut durch. Nachdem die Mischung 2—3 Minuten der Ruhe überlassen ist, hat sich die Aetherlösung vollständig

---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift **26**, 557.

<sup>2)</sup> Zeitschrift f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genussmittel etc. **1**, 21.

<sup>3)</sup> Erhalten durch Auflösen von 200 g Kalihydrat in 1 l Alkohol von 70° Tr.

klar abgesetzt. Man trennt sie in der üblichen Weise von der Seife, filtrirt, wenn nöthig, um etwa vorhandene geringe Wassermengen zu entfernen in einen geräumigen Erlenmeyerkolben und destillirt den Aether nach Zusatz von 1 bis 2 Bimssteinstückchen ab. Die Seifenlösung schüttelt man noch zwei- oder dreimal in derselben Weise mit 200—250 cc Aether aus, gibt die Aetherlösung jedesmal zu dem Destillationsrückstande der vorhergehenden Ausschüttelung und destillirt die Auszüge in derselben Weise ab. Nach dem Abdestilliren des Aethers bleiben in dem Kolben in der Regel geringe Mengen Alkohol zurück. Man entfernt dieselben durch Eintauchen in das kochende Wasserbad unter Einblasen von Luft und verseift den vorwiegend aus Cholesterin, beziehungsweise Phytosterin und Seife, bestehenden Rückstand zur Entfernung etwa noch vorhandener geringer Mengen unverseiften Fettes nochmals mit 10 cc der oben erwähnten alkoholischen Kalilauge etwa 5 bis 10 Minuten am Rückflusskühler im Wasserbade. Den Inhalt des Kolbens führt man alsdann sofort in einen kleinen Scheidetrichter über, spült mit 20 cc Wasser nach, setzt nach hinreichendem Erkalten 80 bis 100 cc Aether zu und schüttelt etwa  $\frac{1}{2}$  bis 1 Minute kräftig durch. Nachdem sich (etwa in 2 bis 3 Minuten) die Aetherlösung klar abgesetzt hat, lässt man die unterstehende wässrig-alkoholische Schicht abfließen und wäscht die Aetherlösung dreimal mit je 5 bis 10 cc Wasser. Nach dem Ablaufen des letzten Waschwassers filtrirt man den Aether zur Entfernung etwa vorhandener Wassertropfchen in ein kleines Becherglas oder Erlenmeyerkölbchen und dunstet oder destillirt ihn langsam ab.

Beim Trocknen im Wasserbade erhält man einen festen, bei thierischen Fetten schön strahlig krystallinischen Rückstand, welcher das Cholesterin, beziehungsweise Phytosterin, enthält, und aus dem diese Körper durch Umkrystallisiren aus absolutem Alkohol rein dargestellt werden. Hierzu wird die abgeschiedene Substanz in dem Bechergläschen oder Kölbchen je nach ihrer Menge mit 2 bis 10 cc absolutem Alkohol übergossen und über einem kleinen Flämmchen auf dem Drahtnetz gelöst, die Lösung in ein kleines Krystallisirschälchen von 25 cc Inhalt gegeben und darin bei loser Bedeckung der Krystallisation überlassen. Dieselbe beginnt in der Regel nach 2 bis 3 Stunden und weist bereits in ihrer makroskopischen Beschaffenheit bei Cholesterin und Phytosterin grosse Verschiedenheiten auf.

Ersteres besitzt die Neigung zusammenhängende, dünne, farblose, stark glänzende Krystalldecken zu bilden, welche die ganze Oberfläche

der Lösung bedecken. Ehe diese Decken vom Rande bis zur Mitte fortgewachsen sind, entnimmt man der Lösung mittelst eines kleinen Platinspatels einige der darin vertheilten, fast unsichtbaren Krystalltafeln mit etwas Mutterlauge, bringt sie auf einen Objectträger, bedeckt mit einem Deckglas und benutzt dieses Präparat zur krystallographischen Untersuchung. Dann entfernt man die Krystalldecke mittelst eines Spatels vorsichtig und presst sie zwischen Filtrirpapier auf einem Thonteller ab. Als bald nach Entfernung der ersten Krystalldecke bildet sich eine neue aus kleineren Krystallen, die ebenfalls, nachdem sie sich über die ganze Flüssigkeit ausgedehnt hat, mit dem Spatel entfernt, abgepresst und zu den ersten Krystallen gegeben wird. In dieser Weise fährt man fort, so lange sich noch gut ausgebildete Krystalle aus der Lösung ausscheiden. Die letzte Mutterlauge wird dann nicht mehr weiter verwendet. Die abgepressten Krystalle werden in gleicher Weise so oft aus wenigen Cubikcentimetern absoluten Alkohols umkrystallirt, bis dieselben rein weiss aussehen und der Schmelzpunkt constant bleibt.

Beim Phytosterin bilden sich meist keine Krystalldecken, sondern die Flüssigkeit ist von feinen Nadelchen erfüllt. Man filtrirt das Ganze durch ein kleines Filterchen, übergiesst den Filterinhalt einige Male mit kleinen Mengen kalten absoluten Alkohols, faltet schliesslich das Filter zum Halbkreis auseinander und presst auf einer Thonplatte ab. Bei jeder Krystallisation wird die Krystallform untersucht und mit dem Umkrystallisiren so oft fortgefahren, bis der Schmelzpunkt sich nicht mehr erhöht.

Bömer legt in dieser Arbeit zunächst Werth auf die krystallographisch-optischen Unterschiede, welche auf seine Veranlassung von O. Mügge näher studirt und an der citirten Stelle mit veröffentlicht wurden. Hiernach lassen sich Cholesterin und Phytosterin leicht von einander unterscheiden. Aus Gemischen krystallisiren Cholesterin und Phytosterin nicht getrennt aus, sondern in einer Form, die entweder dem Phytosterin fast gleich oder, beim Vorherrschen des Cholesterins, von beiden verschieden ist.

In einer zweiten Arbeit behandelt A. Bömer<sup>1)</sup> die Frage nach den Schmelzpunkten des Cholesterins und Phytosterins. Die Bestimmung des Schmelzpunktes erfolgte in U-förmigen Capillaren; Constan-

---

1) Zeitschrift f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genussmittel etc. 1, 81.

des Schmelzpunktes trat meist erst nach drei- bis viermaligem Umkrystallisiren in der eben beschriebenen Weise ein.

Sämmtliche untersuchten thierischen Fette, einschliesslich des Butterfettes<sup>1)</sup>, enthalten Cholesterin vom Schmelzpunkt  $146-148^{\circ}$ , und zwar wesentlich mehr, als man bisher in denselben angenommen hat. Die Pflanzenfette, soweit sie aus Samen gewonnen werden, enthalten grösstentheils beträchtliche Mengen Phytosterin. Doch schwankt der Schmelzpunkt derselben nicht nur bei den verschiedenen Pflanzenfetten nicht unbedeutend, sondern auch bei verschiedenen Proben ein und desselben Oeles findet man je nach dem erlangten Reinheitsgrade unter Umständen etwas verschiedene Schmelzpunkte, nämlich:

	Beginn des Schmelzens	Beginn des Fließens
Minimum . . . .	$135,5^{\circ}$	$136,0^{\circ}$
Maximum . . . .	$141,0^{\circ}$	$141,5^{\circ}$
Mittel . . . .	$137,5^{\circ}$	$137,8^{\circ}$

Auch die aus dem Fruchtfleisch gewonnenen Pflanzenfette (Palmöl und Olivenöl) enthalten beträchtliche Mengen Phytosterin. Dasselbe ist überhaupt kein spezifischer Bestandtheil des Samens, sondern es findet sich in allen Pflanzentheilen, jedoch im Samen in besonders grossen Mengen.

Von besonderer Wichtigkeit für die Beurtheilung der »Phytosterin-Methode« bei der Analyse der Fette ist auch die Untersuchung, wie sich der Schmelzpunkt von Gemischen von Cholesterin und Phytosterin verhält. Hierbei ergab sich, dass dieser ganz annähernd dem aus dem Mengenverhältnisse und dem Schmelzpunkt der Componenten berechneten Schmelzpunkte entspricht. Er liegt bei einem Gemisch von 3 Theilen Phytosterin und 1 Theil Cholesterin etwas niedriger ( $135-136^{\circ}$ ) bei einem Gemisch aus 1 Theil Phytosterin und 3 Theilen Cholesterin etwas höher ( $144-144,5^{\circ}$ ), als der berechnete. Eine Entmischung der Cholesterin-Phytosterin-Gemische findet bei öfterem Umkrystallisiren nicht statt.

Mischungen von viel Cholesterin und wenig Phytosterin, welche durch die Schmelzpunktsbestimmung nicht mehr mit Sicherheit als solche

<sup>1)</sup> Die abweichende Wahrnehmung von E. Salkowski (diese Zeitschrift 26, 557) beruht wahrscheinlich auf dem erheblichen Lecithingehalt des aus Butter abgeschiedenen Roh-Cholesterins.

erkannt werden können, erweisen sich nach der Krystallform noch deutlich als phytosterinhaltig.

Nach Ausarbeitung dieser Methode stellte A. Bömer<sup>1)</sup> Untersuchungen über den Nachweis von Baumwollsaamenöl im Schweinefett an. Er prüfte zuerst das Verfahren zur Bestimmung der inneren Jodzahl von Wallenstein und Finck<sup>2)</sup>, an dem er nur unwesentliche Modificationen anbrachte. Ich erwähne von diesen nur, dass Bömer die Fällung der Bleiseifen in einer Porzellanschale vornahm. Er gelangte zu folgenden Ergebnissen.

	Jodzahl des Fettes	Refraction des Fettes bei 40°	Jodzahl der Oelsäuren	Refraction der Oelsäuren bei 40°
6 Deutsche Schweineschmalze, rein . . . . .	49,8—53,2	—	93,5—103,7	42,8—44,4
18 Amerikanische Schweine- schmalze, rein . . . . .	58,0—63,1	49,6—51,8	95,2—104,9	43,1—44,7
2 Speisefette des Handels				
R. . . . .	69,6	52,6	117,7	47,4
Sch. . . . .	84,5	—	132,5	49,6
3 Baumwollsaamenöle . . . . .	104,6—105,7	—	139,7—144,5	51,4—54,7
2 Olivenöle . . . . .	79,3—81,7	54,3—54,7	96,4—97,0	42,7

Hieraus geht hervor, dass auch die innere Jodzahl beim Schweinefett innerhalb verhältnissmässig weiter Grenzen schwankt, so dass unter Umständen Zusätze von 10 bis 20 % Baumwollsaamenöl nicht durch diese Methode nachgewiesen werden können.

Weiter ergaben Bömers Untersuchungen, dass eine Vermehrung der Aethermenge beim Ausschütteln der Bleiseifen auf mehr als das Doppelte der von Wallenstein und Finck vorgeschriebenen Menge das Resultat nicht merklich beeinflusst. Eben so wenig übt es einen Einfluss auf das Resultat aus, wenn man dieses Ausschütteln bei Gegenwart von Luft anstatt in einer Wasserstoff-Atmosphäre vornimmt. Trocknet man dagegen die Oelsäuren im Wasser-Trockenschrank bei freiem Luftzutritt anstatt im Kohlensäurestrom, so nimmt in Folge von Oxydation die Jodzahl ab.

Bömer stellte dann noch Versuche über die Trennung der Oelsäuren mit Hülfe der Zinkseifen an. Anregung hierzu gab

1) Zeitschrift f. Untersuchung der Nahrungs- und Genussmittel etc 1, 532.

2) Vergl. diese Zeitschrift 39, 168.

ein Verfahren von M. Mansfeld<sup>1)</sup>, welches von dem in dieser Zeitschrift besprochenen von G. Halphen<sup>2)</sup> sich nur dadurch unterscheidet, dass an Stelle von Schwefelkohlenstoff Aether genommen wird. Bömer änderte jedoch das Verfahren dahin ab, dass er genau so verfuhr, wie bei demjenigen von Wallenstein und Finck, nur dass er an Stelle der Bleiacetatlösung zum Fällern 10procentige Zinksulfatlösung verwendete. Die so bestimmten inneren Jodzahlen zeigten keine wesentlichen Unterschiede gegenüber den nach der Bleimethode ermittelten.

Es erwies sich nun bei der Zinkmethode überflüssig, die flüssigen Fettsäuren aus den Zinksalzen zu isoliren. Die ätherische Lösung der Zinksalze wird vielmehr im Jodirungskölbchen verdunstet, der Rückstand  $\frac{1}{4}$  bis  $\frac{1}{2}$  Stunde im Wassertrockenschrank getrocknet und dann mit Chloroform und Hübl's Jodlösung versetzt etc. Man erhält so die Jodzahl des Zinksalzes und durch Multiplication derselben mit 1,112 die Jodzahl der flüssigen Fettsäuren selbst. Die geringen Unterschiede im Moleculargewicht der Oelsäure, Linolsäure und Linolensäure üben auf den Factor keinen wesentlichen Einfluss aus. Die so bestimmten inneren Jodzahlen stimmten mit den direct ermittelten theilweise gut überein, so dass die Methode nicht ganz aussichtslos erscheint.

Auf die Bleiseifen ist diese Vereinfachung des Verfahrens nicht ohne weiteres anwendbar, da beim Vermischen ihrer Chloroformlösung mit Hübl's Jodlösung ein Niederschlag von Chlorblei entsteht.

Bömer kommt nun nochmals auf die Phytosterinprobe zu sprechen und zeigt, dass dieselbe unter günstigen Verhältnissen (bei einheimischen Fetten) noch 1 bis 2  $\frac{0}{0}$ , im übrigen aber 3—4  $\frac{0}{0}$  Baumwollsamöl im Schweinefett durch die mikrokrystallographische Untersuchung nachzuweisen gestattet. Sie bietet auch den Vorzug auf ranziges und auf gezwiebeltes Schweineschmalz anwendbar zu sein, bei welchem bekanntlich zum Beispiel die Reaction von Becchi versagt, und theilweise (bei ersterem) auch die Jodzahl unsicher ist. Begnügt man sich mit der krystallographischen Untersuchung, so genügt die Verarbeitung von 10 g Schmalz, für die Ermittlung des Schmelzpunktes sind dagegen 50 g in Arbeit zu nehmen.

---

1) Zeitschrift f. Nahrungsmittel-Untersuchung, Hygiene und Waarenkunde **9**, 200.

2) Vergl. diese Zeitschrift **39**, 174.

Eine kurze Zusammenfassung aller vorstehenden Ergebnisse trug A. Bömer<sup>1)</sup> auf der 17. Jahresversammlung der freien Vereinigung bayerischer Vertreter der angewandten Chemie vor.

Damals sprach es Bömer bereits aus, dass nach einigen Versuchen sich die Ester des Cholesterins und Phytosterins zu einer Unterscheidung durch den Schmelzpunkt besser zu eignen scheinen als die Alkohole selbst. In Verfolgung dieses Gedankens haben nunmehr A. Bömer und K. Winter<sup>2)</sup> die Ameisensäure-, Essigsäure-, Propionsäure-, Buttersäure- und Benzoësäure-Ester des Cholesterins und Phytosterins näher untersucht. Die Darstellung der vier ersteren erfolgte durch Erhitzen des Alkohols mit der fünffachen Säuremenge im geschlossenen Rohr im siedenden Wasserbad, diejenigen der Benzoësäureester durch halbstündiges Erhitzen der Alkohole im offenen Reagenrohr mit Benzoylchlorid auf 160°. Die Arbeit enthält neben anderen Angaben vor allem sehr reichliche Mittheilungen über Krystallform und Schmelzpunkt.

Diese Vorarbeiten führten schliesslich A. Bömer<sup>3)</sup> zur Ausarbeitung der von ihm so genannten »Phytosterinacetat-Probe.« Da es bei dieser auf sehr geringe Unterschiede im Schmelzpunkt ankommt, so sind alle Bestimmungen mit einem Normalthermometer auszuführen und mit der Correctur für die Länge des herausragenden Quecksilberfadens zu versehen. Bömer theilt daher die folgende Tabelle corrigirter Schmelzpunkte mit, welche an Stelle der in den vorhergehenden Abhandlungen mitgetheilten directen Ablesungen zu setzen sind. Als Schmelzpunkt ist ferner nunmehr die Temperatur angesehen, bei welcher die Substanz zu fließen beginnt.

Corrigirte Schmelzpunkte.

	Cholesterin ° C.	Phytosterin ° C.
Die Alkohole selbst . . . . .	148,4—150,8	138,0—143,8
Ameisensäureester . . . . .	96,8	105,5—114,3
Essigsäureester . . . . .	114,3—114,8	125,6—137,0
Propionsäureester . . . . .	96,8	106,0—117,3
Normal-Buttersäureester . . . . .	96,8	86,5—90,6
Benzoësäureester . . . . .	148,4	145,3—148,4

1) Zeitschrift f. Untersuchung der Nahrungs- u. Genussmittel etc. 2, 46.

2) Zeitschrift f. Untersuchung der Nahrungs- u. Genussmittel etc. 4, 865.

3) Zeitschrift f. Untersuchung der Nahrungs- u. Genussmittel etc. 4, 1070.

Die Phytosterinacetat-Probe beruht auf der Thatsache, dass sich in Mischungen von Phytosterinacetat und Cholesterinacetat ersteres in Folge seiner schwereren Löslichkeit durch fractionirte Krystallisation anreichern und danach in Folge seines hohen Schmelzpunktes erkennen lässt. Sie ermöglicht hierdurch einen noch schärferen und für den mit krystallographischen Forschungen minder vertrauten Fachgenossen auch leichteren Nachweis aller Pflanzenfette in allen Thierfetten. Ihre Ausführung geschieht folgendermaassen.

Aus 100 g Fett wird in üblicher Weise das Roh-Cholesterin, beziehungsweise -Phytosterin, dargestellt. Nachdem dieses nach der zweiten Verseifung durch mehrmaliges Ausschütteln der ätherischen Lösung mit etwas Wasser von der mitgelösten Seife befreit, und der Aether grösstentheils abdestillirt ist, gibt man die ätherische Lösung in ein kleines Krystallisirschälchen, verdunstet den Aether vollständig, löst den Rückstand in möglichst wenig absolutem Alkohol und lässt krystallisiren. Die sich zuerst ausscheidenden Krystalle prüft man mittelst der »Phytosterin-Probe« mikroskopisch auf ihre Krystallform, ob Cholesterin- oder Phytosterin-, beziehungsweise Mischkrystalle vorliegen. Nachdem dies geschehen ist, verdunstet man den Alkohol wieder vollständig auf dem Wasserbade, setzt darauf 2—3 cc Essigsäureanhydrid hinzu, erhitzt unter Bedeckung des Schälchens mit einem Uhrglase auf dem Drahtnetz etwa  $\frac{1}{4}$  Minute zum Sieden, und verdunstet nach Entfernung des Uhrglases den Ueberschuss des Essigsäureanhydrids auf dem Wasserbade. Darauf erhitzt man den Inhalt des Schälchens mit so viel absolutem Alkohol, wie zur Lösung des Esters erforderlich ist (meist 10 bis 25 cc), setzt alsdann, um ein sofortiges Krystallisiren beim Erkalten zu vermeiden, noch einige Cubikcentimeter Alkohol hinzu und überlässt die klare Lösung, anfangs — bis zum Erkalten auf Zimmertemperatur — unter Bedeckung mit einem Uhrglase, der Krystallisation.

Nachdem die Hälfte bis zwei Drittel der Flüssigkeit verdunstet und der grösste Theil des Esters auskrystallisirt ist, filtrirt man die Krystalle durch ein kleines Filter ab und bringt den in der Schale noch befindlichen Rest mit Hilfe eines kleinen Spatels und durch zweimaliges Aufgiessen von 2 bis 3 cc 95 procentigem Alkohol gleichfalls auf das Filter. Den Filtrerrückstand bringt man, eventuell nach Abpressen auf einem Thonteller, wieder in das Krystallisationsschälchen zurück, löst denselben je nach seiner Menge in 5 bis 10 cc absolutem Alkohol und lässt wiederum krystallisiren. Nachdem der grösste Theil



des Esters auskrystallisirt ist, filtrirt man abermals ab und krystallisirt weiter in derselben Weise so lange um, als die Menge des Esters ausreicht.

Von der dritten Krystallisation an bestimmt man den corrigirten Schmelzpunkt des Esters und wiederholt diese Bestimmung bei jeder folgenden Krystallisation. Ist bei den in dieser Weise ausgeführten Schmelzpunktsbestimmungen bei der letzten Krystallisation der Ester bei  $116^{\circ}$  noch nicht vollständig geschmolzen, so ist ein Zusatz von Pflanzenfett anzunehmen, schmilzt der Ester aber erst bei  $117^{\circ}$  oder noch höher, so kann ein Gehalt an Pflanzenfett mit Bestimmtheit als erwiesen angesehen werden.

Empirisch gewonnene Erfahrungen über die Höhe des Schmelzpunktes bei selbst bereiteten Mischungen gestatten eine Schätzung des Procentgehaltes an Pflanzenfett. So schätzte Bömer bei

$117-118^{\circ}$  auf 1—2 %

$120-121^{\circ}$  « 2—3 «

$123-124^{\circ}$  « 3—4 «

und traf mit diesen Schätzungen recht annähernd den wahren Gehalt der von anderer Seite bereiteten Mischungen.

C. Virchow<sup>1)</sup> hat die von Bömer geschaffenen Methoden erfolgreich bei Bearbeitung der Frage benutzt, ob mit der Nahrung verabreichtes Phytosterin in das Körperfett des Thieres übergeht. Diese Frage konnte verneinend beantwortet werden. Im übrigen enthält die Arbeit weiteres krystallographisches Material, welches von Tietze dem Verfasser zur Verfügung gestellt wurde.

Neben dem von Bömer gewählten Verfahren zur Abscheidung des Cholesterins, beziehungsweise Phytosterins, wurden noch einige andere vorgeschlagen, über die ich im Folgenden berichte.

A. Forster und R. Riechelmann<sup>2)</sup> kochen 50 g Fett zweimal mit je 75 cc 95grädigem Alkohol am Rückflusskühler je 5 Minuten aus. Die vom erstarrten Fett abgegossenen und filtrirten Lösungen werden am absteigenden Kühler mit 15 cc 50procentiger Natronlauge im Wasserbade gekocht, bis der Alkohol zu etwa  $\frac{3}{4}$  verflüchtigt ist. Hierauf wird der Rückstand in einer Porzellanschale ziemlich zur Trockne gebracht, in einen Schüttelcylinder übergefüllt und mit Aether ausgeschüttelt. Der ätherische Auszug wird zur Trockne gebracht, der

1) Zeitschrift f. Untersuchung der Nahrungs- u. Genussmittel etc. 2, 559.

2) Zeitschrift f. öffentliche Chemie 3, 10.

Rückstand nochmals mit wenig Aether ausgezogen und die erhaltene filtrirte Aetherlösung verdunstet. Der erhaltene Rückstand wird aus 95 grädigem Alkohol umkrystallisirt.

A. Bömer<sup>1)</sup> erhielt nach diesem Verfahren wesentlich geringere Ausbeuten als nach seinem eigenen. Selbst bei fünfmaligem Auskochen mit Alkohol bleiben die Ausbeuten noch erheblich hinter denen nach Bömers eigenem Verfahren zurück.

E. von Raumer<sup>2)</sup> brachte behufs Aetherersparniss folgendes Verfahren in Vorschlag. 50 g Fett werden in einem Glaskolben mit 100 cc 20 procentiger alkoholischer Kalilauge verseift. Die Seifenlösung wird dann sofort in einer Porzellanschale zur Trockne gebracht und der Trockenrückstand mittelst Nickelspatels und Pistills zu einer staubförmigen Masse zerrieben. Die noch warme Seife bringt man in einen Soxhlet-Extractor und extrahirt sie mit Aether. Nach dem Verjagen des Aethers wird der Rückstand mit 10 cc  $\frac{1}{2}$  normaler alkoholischer Kalilauge auf's Neue verseift, in einem kleinen Schälchen mit gereinigtem Sand zur Trockne verdampft und die Masse in eine kleine Papierpatrone gefüllt und wiederum in einem kleinen Soxhlet'schen Extractionsapparate 2 Stunden extrahirt. Man erhält so das Roh-Cholesterin, beziehungsweise Phytosterin, das aus Alkohol umzukrystallisiren ist.

A. Juckenack und A. Hilger<sup>3)</sup> weisen darauf hin, dass sie sich des gleichen Verfahrens gelegentlich ihrer Untersuchungen über die Veränderungen des Kaffeeettes durch Rösten<sup>4)</sup> bedienten. Nur verwendeten sie zweckmässig alkoholische Natronlauge statt Kalilauge zur Verseifung, weil die erhaltene härtere Natronseife leichter zu trocknen und zu pulvern ist. Statt Sand empfehlen die Verfasser nunmehr als Zusatz zur Seife etwas mit Wasser zum Brei angeschütteltes fett-freies Filtrirpapier. Hierdurch wird die Seife erheblich lockerer und löst sich auch leichter von den Wandungen der Porzellanschale ab.

H. Kreis und O. Wolf<sup>5)</sup> verseifen 50 g des zu untersuchenden Fettes mit 125 cc Alkohol und 25 cc 40 procentiger wässriger Natronlauge und dampfen zur Trockne. Die wässrige Lösung der erhaltenen Seife wird mit Salzsäure nahezu neutralisirt, dann mit Chlorcalcium gefällt und die

---

1) Zeitschrift f. Untersuchung der Nahrungs- u. Genussmittel etc. **1**, 37.

2) Zeitschrift f. angew. Chemie 1898, S. 555.

3) Archiv d. Pharmacie **236**, 367.

4) Forschungsberichte über Lebensmittel etc. **4**, 128.

5) Chemiker-Zeitung **22**, 805.

erhaltene Kalkseife, welche alles Cholesterin, beziehungsweise Phytosterin, enthält, abcolirt und abgepresst. Man kocht sie dann mit 100 cc 95grädigem Alkohol aus und dampft die erhaltene Lösung mit 3 cc 40procentiger Natronlauge zur Trockne. Der Rückstand wird zerrieben und mit 50 cc Aether in der Kälte ausgezogen.

F. Zetsche<sup>1)</sup> fand bei einer vergleichenden Prüfung aller vorstehend beschriebenen Verfahren das Bömer'sche als das beste.

Nach O. Foerster<sup>2)</sup> gewinnt man nach Kreis und Wolf nur einen sehr geringen Theil des in den Fetten enthaltenen Phytosterins.

H. Kreis und E. Rudin<sup>3)</sup> geben dies zu und verbessern das Verfahren dahin, dass sie die zwischen Fliesspapier gepressten, fein gepulverten Kalkseifen 1 Stunde unter öfterem Umschütteln mit 100 cc eines Gemisches aus gleichen Theilen Alkohol und Aether stehen lassen und die erhaltene Lösung über Filtrirpapier abzusaugen. Weiter hat sich gezeigt, dass die Neutralisation der Seifenlösung mit Salzsäure überflüssig ist, und ferner lässt sich durch Zusatz von 20 g Quarzsand nach der zweiten Verseifung das Trocknen der Natronseife beschleunigen. An Stelle der Auskochung mit Aether tritt schliesslich eine Extraction im Soxhlet-Apparat.

Nach F. Wirthle<sup>4)</sup> ist es bei der Bömer'schen Methode vortheilhaft bei Verarbeitung von 25 g Fett zur alkalischen Seifenlösung statt 100 cc Wasser 130 cc zuzusetzen. Ferner empfiehlt er bei ranzigen Fetten das Umkrystallisiren unter Zusatz von etwas Thierkohle vorzunehmen.

Ein Zusatz von »Vegetale«, welches Baumwollstearin als Hauptbestandtheil enthält, zum Schweineschmalz, lässt sich aus der Krystallform des nach Bömer isolirten Phytosterins nachweisen. Vegetale ist ein gelbes halbfestes Fett, dessen Jodzahl der Verfasser = 89,2, dessen Verseifungszahl er = 196,1 fand. Die Refractometerzahl war bei 25° C. = 63,3.

R. Burián<sup>5)</sup> beschrieb zwei Phytosterine, die beide sowohl aus dem Fette von Weizen- als auch von Roggenkeimlingen dargestellt wurden, und denen er die Namen Sitosterin und Parasitosterin

<sup>1)</sup> Pharm. Centralhalle **39**, 877.

<sup>2)</sup> Chemiker-Zeitung **23**, 188.

<sup>3)</sup> Chemiker-Zeitung **23**, 986.

<sup>4)</sup> Chemiker-Zeitung **23**, 250.

<sup>5)</sup> Monatshefte f. Chemie **18**, 551.

ertheilt. Beide sind mit Cholesterin isomer, enthalten wie dieses im Molecül eine doppelte Bindung, unterscheiden sich aber im Schmelzpunkt, im specifischen Drehungsvermögen und in den Eigenschaften ihrer Derivate deutlich vom Cholesterin. Der Arbeit ist eine tabellarische Zusammenstellung der Eigenschaften der bisher dargestellten Phytosterine beigelegt, auf die ich hiermit verweise.

L. Tschugaern<sup>1)</sup> beschrieb eine neue Farbenreaction des Cholesterins, die noch in einer Verdünnung 1:80000 deutlich wahrnehmbar ist und Liebermann's Reaction folglich an Empfindlichkeit übertrifft. Löst man Cholesterin in Eisessig und erwärmt nach Zusatz von Acetylchlorid und einem Stückchen Zinkchlorid, so tritt je nach dem Cholesteringehalt eine eosinähnliche, rothe bis rosa Färbung mit grünlichgelber Fluorescenz auf. Die Reaction ist am stärksten nach 5 Minuten langem Kochen.

---

## 2. Auf Pharmacie bezügliche Methoden.

Von

H. Mühe.

**Ueber die Bestimmung des Morphins im Opium** liefert E. Merck<sup>2)</sup> werthvolle Beiträge. Die Vorschrift für die Bestimmung des Morphins im Opium, welche das D. A. B. IV aufgenommen hat, liefert, wie aus der Fachliteratur hervorgeht, etwa 1 % Morphins weniger als die Methode des D. A. B. III. Eine Fehlerquelle liegt bei der Morphinbestimmung darin, dass Morphin nicht vollständig unlöslich in Wasser ist; durch Anwendung von Aether und überschüssigem Ammoniak wird die Löslichkeit des Morphins noch etwas erhöht, wodurch ein Fehler von 0,5 bis 1 % entsteht, der sich nicht umgehen lässt. Die niedrigen Resultate, welche man nach der Methode des D. A. B. IV erhält (unter Umständen weichen die Werthe um 3 % von dem wirklichen Gehalte des Opiums ab) sind auf die Verwendung von Natriumsalicylat zurückzuführen. Diese Fehlerquelle lässt sich jedoch leicht umgehen, indem man den wässerigen Opiumauszug direct mit der nöthigen Menge Ammoniak

---

<sup>1)</sup> Journal d. russ. phys. chem. Gesellsch. **32**, 363; durch Zeitschrift f. Untersuchung der Nahrungs- u. Genussmittel etc. **4**, 974.

<sup>2)</sup> E. Merck, Jahresbericht über das Jahr 1901, S. 1.