Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 35 (1944)

Heft: 1-2

Artikel: Zur Kenntnis der Kreatinin vortäuschenden Stoffe bei der Reaktion nach Jaffé

Autor: Staub, M.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-983541

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: 09.07.2025

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

ZUR KENNTNIS DER KREATININ VORTÄUSCHENDEN STOFFE BEI DER REAKTION NACH JAFFÉ

Von *M. Staub*

(Mitteilung aus dem kantonalen Laboratorium Zürich, Vorstand: Dr. M. Staub)

Einleitung

Nachdem *Folin*[1]) die bekannte *Jaffé*-Reaktion auf Kreatinin zu einer quantitativen Methode ausgearbeitet hatte, haben sich die Lebensmittelchemiker in zahlreichen Arbeiten mit der Anwendung dieser Methode auf Lebensmittel beschäftigt. Trotz den dabei erzielten Verbesserungen ist eine völlig befriedigende Methodik noch nicht gefunden worden. Die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Versuche über die Kreatinin vortäuschenden Stoffe führten zur Entwicklung einer Arbeitsweise, die uns auf einfache Art zu entscheiden ermöglicht, ob Produkte, wie sie im Art. 122 der schweizerischen Lebensmittelverordnung vom 26. Mai 1936 beschrieben sind, überhaupt Fleischextrakt, resp. Kreatinin enthalten oder nicht. Die an einem grossen Versuchsmaterial erworbenen Erfahrungen zeigten uns, dass auch die quantitative Auswertung der Methode zu durchaus brauchbaren Ergebnissen führt.

Bei der Durchsicht der umfangreichen Kreatinin-Literatur seit dem Jahre 1832 kann man ersehen, dass die früher benutzte Isolierung des Kreatinins als Chlorzink-Doppelsalz umständlich und nicht quantitativ ist und ferner, dass ein streng spezifisches Fällungsmittel nicht gefunden werden konnte. Seit der Entdeckung verschiedener Farbreaktionen des Kreatinins kamen fast ausschliesslich die viel rascher und einfacher arbeitenden kolorimetrischen Methoden in Gebrauch. Es gelang aber auch nicht, eine nur für Kreatinin spezifische Farbreaktion zu finden. Deshalb ging das Bestreben dahin, die störenden und Kreatinin vortäuschenden Stoffe möglichst vollständig zu entfernen.

Anmerkung: Der experimentelle Teil der vorliegenden Arbeit wurde in der Untersuchungsanstalt der Aktiengesellschaft Alimentana in Kempttal ausgeführt.

In diesem Zusammenhang möchten wir darauf hinweisen, dass das Arbeiten mit dem in den letzten Jahren von verschiedenen Seiten vorgeschlagenen Stufenphotometer nicht unbedingt einen Vorteil bedeutet. Wie wir zeigen konnten, ist es auch beim Arbeiten mit dem Stufenphotometer nicht möglich, die Kreatinin vortäuschenden Stoffe von Kreatinin zu unterscheiden. Durch die Verschärfung der Ablesung wird eine kolorimetrische Methode nicht spezifischer. Man kann also auch mit einem einfacheren Kolorimeter durchaus brauchbare Resultate erhalten, wenn man nur dafür besorgt ist, dass störende Stoffe möglichst vollständig entfernt werden. Weiterhin kann die Reproduzierbarkeit der Werte in verschiedenen Laboratorien nur dann garantiert werden, wenn die Arbeitsvorschrift peinlich genau eingehalten wird und eine ständige Kontrolle der kolorimetrischen Vergleichslösungen mit Testproben erfolgt.

Ergebnisse mit der in der 3. Auflage des schweizerischen Lebensmittelbuches beschriebenen Methode und derjenigen von Sudendorf und Lahrmann

Die in der 3. Auflage des Lebensmittelbuches niedergelegte amtliche Kreatininbestimmungsmethode nach *Folin-Geret*[2]) hat nur für Fleischextrakte befriedigende Werte gegeben. Für Bestimmungen in Fleischbrühpräparaten musste hingegen die Methode von *Sudendorf* und *Lahrmann*[3]) angewandt werden, da die Lösungen nach der Salzsäurebehandlung in vielen Fällen zu dunkel waren und erst nach der Aufhellung durch Permanganat kolorimetriert werden konnten. Nun zeigte sich die merkwürdige Erscheinung, dass bei Anwendung der *Sudendorf-* und *Lahrmann*methode in fleischextraktlosen Suppenwürzen 2,3 — 2,8% Fleischextrakt vorgetäuscht werden. Eine Vergrösserung des Permanganatzusatzes blieb wirkungslos. Arbeitete man aber nach der Methode des Lebensmittelbuches 3. Auflage, so trat die *Jaffé*-Reaktion nicht mehr ein. Selbst in Würzen, denen man Fleischextrakt zugesetzt hatte, war die Reaktion nach der letzterwähnten Methode negativ. Der Grund dafür ist darin zu suchen, dass bei Würzen das Reaktionsgemisch trotz dem Eindampfen zu sauer ist und erst nach vorangehender Neutralisation die *Jaffé*-Reaktion gibt. *Jaffé*[4]) wies selbst darauf hin, dass durch Ansäuern des Kreatinin-Pikrinsäuregemisches die rote Farbe bald in gelb umschlägt.

Im Zusammenhang mit der *Sudendorf- und Lehrmann*methode prüften wir auch die Angabe von *K.* und *H. Beck*[5]) nach, wonach Neutralsalze die Kreatininwerte herabdrücken sollen. Wir konnten dies aber nicht bestätigen.

Auch nach *Lusczak*[6]) beeinflussen die in Fleischextrakten und Suppenkonserven vorhandenen NaCl-Mengen die Extinktion nicht. *Schormüller* und *Mohr*[7]) wiesen darauf hin, dass sich die Aufhellung der Kreatininfärbung durch Neutralsalze bei den meisten Salzen innerhalb der normalerweise zu erwartenden Konzentrationen für die Untersuchungen am Stufenphotometer nicht bemerkbar mache. Dagegen finde man schon nach Zusatz kleiner Mengen von Erdalkali-

salzen einen merklichen Salzfehler, der teilweise darauf zurückzuführen sei, dass in der übersättigten Lösung ein das Licht reflektierender Niederschlag sich bildet.

Wir prüften nun zunächst eine Reihe von Stoffen darauf hin, ob sie mit Pikrinsäure und Natronlauge die *Jaffé*-Reaktion geben. In der Tat konnte mit vielen Substanzen eine mehr oder weniger starke rote Färbung erzielt werden, die aber stark von der Verdünnung abhängig ist.

Mohler und *Helberg*[8]) erwähnen, dass Glykokoll, Arginin und Histidin die *Jaffé*-Reaktion geben, wobei die Reaktion in konzentrierter Lösung rascher verläuft. Wir fanden, dass auch mit Pikrinsäure und Natronlauge allein bei gewissen Konzentrationen eine rotstichige Färbung auftritt. Nach Angaben von *Gottlieb* und *Stangassinger*[9]) lassen sich durch geeignet gewählte Konzentrationen von Pikrinsäure und Natronlauge fast alle Schattierungen wässriger Kaliumbichromatlösungen nachahmen.

Da die Verdünnung offenbar eine wichtige Rolle spielt, versuchten wir durch Änderungen im Laugenzusatz die *Jaffé*-Reaktion der Kreatinin vortäuschenden Stoffe zu verhindern. In der Tat zeigte sich nach Verminderung des Laugenzusatzes bei fleischextraktlosen Suppenwürzen keine Reaktion mehr. Wird reines Kreatinin bei gleichem Pikrinsäurezusatz mit abnehmenden Mengen Lauge versetzt, so hat dies auf die Farbtiefe der Reaktion keinen Einfluss. Hingegen drückt ein grösserer Überschuss an Lauge bei Fleischextrakt selbst das Resultat beträchtlich herunter.

Nach *Feigl*[10]) kann die störende Wirkung Kreatinin vortäuschender Stoffe durch Bemessung des Alkaligehaltes gehemmt werden.

Versuche mit Bariumhydroxyd

Bekanntlich können manche dunkle Lösungen durch Behandeln mit Barytlösung aufgehellt werden (*Micko*[11]). Eine Reihe von Versuchen zeigte uns, dass die Behandlung von Würzen mit einer kalt gesättigten Barytlösung einen beträchtlichen Teil der Kreatinin vortäuschenden Stoffe zu entfernen vermag. Auf Kreatinin selbst übt Baryt in der Kälte keinen nachteiligen Einfluss aus, vorausgesetzt, dass der Baryt vor dem Pikrinsäurezusatz zur Hauptsache wieder ausgefällt wird. An Modellversuchen mit Würzen, denen man genau bekannte Mengen Fleischextrakt zugesetzt hatte, konnte gezeigt werden, dass nach der Behandlung mit Baryt der Gehalt an Kreatinin genauer wiedergefunden wird, als dies bisher möglich war.

Bemerkungen zum Hehner-Kolorimeter

Unsere ersten Versuche führten wir ausschliesslich mit dem einfachen *Hehner*-Kolorimeter durch. Von diesem Apparat darf aber keine zu grosse absolute Genauigkeit erwartet werden. Immerhin hat dieses billige Kolorimeter den Vorteil, dass bei einiger Erfahrung die zu kolorimetrierenden Lösungen eher als

im *Dubosq*-Kolorimeter oder im Stufenphotometer daraufhin beurteilt werden können, ob sie Kreatinin enthalten oder nicht. Da vielleicht nicht in jedem Laboratorium ein modernes Kolorimeter vorhanden ist, möchten wir einige Beobachtungen über das *Hehner*-Kolorimeter mitteilen. Von besonderer Wichtigkeit ist die Konzentration der Vergleichsbichromatlösung. Sie muss für jeden Apparat auf reines Kreatinin eingestellt werden. Für unser Kolorimeter hatte sie eine Stärke von 1,29 — normal. Die 3. Auflage des Lebensmittelbuches verlangt eine n/2-Bichromatlösung, was nach unseren Erfahrungen viel zu hohe Werte ergibt. Natürlich muss auch die Schichthöhe in cm und nicht in cm^3 gemessen werden. Die in der Tabelle auf Seite 73 des Buches angegebenen Kreatininwerte erfüllen die Bedingungen des *Beer*'schen Gesetzes nicht. Nach unseren Erfahrungen sind die mit dem *Hehner*-Kolorimeter erhaltenen Werte um etwa 5 % zu niedrig. Für Vergleichsbestimmungen genügt das Kolorimeter aber vollständig. Von der Verwendung von Tierkohle ist man ganz abgekommen. Schon *Vautier*[12]) und *Pfizenmaier* und *Galanos*[13]) warnten vor dem Gebrauch von Tierkohle; siehe auch *Müller*[14]).

Da die Angaben der Literatur (*Hehner*[15]); *Emmett* und *Grindley*[16]); *Baur* und *Trümpler*[17])) über die anzuwendenden Mengen Pikrinsäure und Natronlauge erheblich voneinander abweichen, prüften wir die Sachlage nach und stellten fest, dass bei Anwendung von 8 oder 10 cm^3 Natronlauge (10 %), resp. 20 oder 15 cm^3 Pikrinsäurelösung im Ergebnis keine Unterschiede auftreten.

Entwicklung einer Methode zur Entfernung von Kreatinin vortäuschenden Stoffen

Wir konnten unsere Kenntnisse über die Natur der Kreatinin vortäuschenden Stoffe wesentlich erweitern, als wir in einer eingedickten Würze, die unter Verwendung von 50 % Rohrzucker hergestellt worden war, nach der Methode von *Sudendorf* und *Lahrmann* einen scheinbaren Fleischextraktgehalt von etwa 20 % feststellten. In der entsprechenden Würze fanden wir trotz Anwendung der «Barytmethode» immer noch 4,9 % Fleischextrakt. In diesem Produkt mussten also so viele oder dann ganz andere Kreatinin vortäuschende Stoffe als in den bislang untersuchten Produkten vorhanden sein. Aus der Literatur ist bekannt, dass Zucker und viele andere Stoffe Kreatinin vortäuschen können. Wir zitieren nachstehend die hauptsächlich in Frage kommenden Arbeiten:

Jaffé[4]) weist schon in seiner ersten Arbeit über die Pikrinsäurereaktion des Kreatinins darauf hin, dass Traubenzucker bei gewöhnlicher Temperatur erst nach langem Stehen, beim Erwärmen aber sofort die bekannte blutrote, auf Reduktion der Pikrinsäure beruhende Farbe gebe. Nur Aceton zeige schon in der Kälte eine schwach rötlichgelbe Nuance. Nach *Folin*[1]) wird die *Jaffé*-Reaktion durch Aceton, Acetessigsäure, Acetessigester und H_2S gestört. *Feigl*[10]) erwähnt, dass nach *Folin* Lävulinsäure schon in der Kälte Pikrinsäure reduzieren könne. Zur Entfernung des Acetons bei Kreatininbestimmungen in Blut empfiehlt er

Behandlung mit Äther. Ketosen sollen leichter mit Pikrinsäure reagieren als Aldosen. Nach *Sasaki*[18]) sind die Kreatinin vortäuschenden Stoffe Glycocyamidin, Aceton, Acetessigsäure und Acetessigester nur hinsichtlich der Geschwindigkeit und Intensität der *Jaffé*-Reaktion mehr oder weniger verschieden. Auch Glucose, Fructose und Galactose sollen die Reaktion geben. Keine Reaktion geben u. a. Zuckersäure, Gluconsäure, Schleimsäure, Furfurol, Essigsäure, Malonsäure, Harnstoff. *Viollier*[19]) berichtet über eine Beobachtung, wonach Zwiebelpulver nach dem Aufschliessen mit Salzsäure einen geringen Gehalt an Kreatinin vortäuschen könne. Nach *Mohler* und *Helberg*[8]) ist Gelatine nach der Behandlung mit Salzsäure geeignet, Kreatinin vorzutäuschen. *Dirr* und *Schadl*[20]) erwähnen, dass Ameisensäure nach dem Zusatz von Pikrinsäure und Natronlauge eine kräftige Rotfärbung gebe, die beim Umschütteln sofort verschwinde. *Schormüller* und *Mohr*[7]) machen darauf aufmerksam, dass bei Hefenextrakt mit dem Auftreten von Zucker infolge Hydrolyse des Hefengummis zu rechnen sei. Nach *Birkhofer* (Inaug. Diss. Erlangen 1935) soll bei der Behandlung von Zuckern mit organischen Säuren keine Lävulinsäure entstehen. Es wäre deshalb vielleicht aussichtsreich, die Inversion mit einer organischen Säure durchzuführen, wobei aber der pH-Wert nicht über 3 liegen dürfe, da sonst die Umwandlung von Kreatin in Kreatinin nicht vollständig sei.

Wir prüften nun zunächst die Zuckerhydrolysat enthaltende Würze nach *Molisch* auf Kohlenhydrate. Der negative Ausfall der Reaktion zeigte, dass die Kohlenhydrate bei der Herstellung der Würze umgewandelt worden waren. Merkwürdigerweise fiel der Wert der *Jaffé*-Reaktion ohne Permanganatbehandlung niedriger aus. Daraus darf geschlossen werden, dass die Kreatinin vortäuschenden Stoffe durch Permanganat nicht zerstört, die die Reaktion hindernden Stoffe dagegen offenbar vernichtet werden. Auch verschiedene Versuche mit wechselnden Barytmengen führten zu keinem befriedigenden Ergebnis.

Da nun offenbar in unserem Falle die Hauptmenge der Kreatinin vortäuschenden Stoffe von den Abbauprodukten des Rohrzuckers geliefert werden, untersuchten wir ein reines Zuckerhydrolysat, hergestellt durch mehrstündiges Erhitzen von Rohrzucker mit 20-proz. Salzsäure im Autoklaven. Werden die verschiedenen Kreatininbestimmungsmethoden darauf angewandt, so findet man je nach Methode 4 — 5 % vorgetäuschten Fleischextrakt. Die «Barytmethode» versagt hier vollkommen. Aus Rohrzucker entstehen bei der Hydrolyse zuerst einfache Zucker, dann bei weiterer Säureeinwirkung in der Wärme Huminsubstanzen, Furfurol, Ameisensäure und Lävulinsäure. Die Hexosen und die Stoffe, aus welchen sie hydrolytisch entstehen (Stärke), geben beim Erhitzen mit Säuren Lävulinsäure, die Pentosen dagegen geben diese Säure nicht. (*Wehmer* und *Tollens*[21]). Eine Vorprüfung ergab, dass huminsaures Natrium und Ameisensäure keine Reaktion, Furfurol eine sehr schwache, Lävulinsäure hingegen eine sehr schöne *Jaffé*-Reaktion geben. Der Nachweis von Furfurol im Zuckerhydrolysat gelang nicht. Somit schien die Kreatinin vortäuschende Färbung vor allem durch Lävulinsäure bedingt zu sein.

Nach *Schormüller* und *Mohr*[7]) gibt Lävulinsäure mit Alkalipikrat eine intensiv rotbraune Färbung, wie schon *Janney* und *Blatherwick*[22]) gefunden haben, und verstärkt gleichzeitig die Farbe einer Kreatininlösung; siehe auch *Feigl*[10]).

An verschiedenen Mischungen, hergestellt aus den in Zuckerhydrolysaten vorkommenden Stoffen, konnten wir zeigen, dass die Kreatinin vortäuschende Substanz zur Hauptsache die Lävulinsäure sein muss. Da nun die bei der Hydrolyse von stärke- oder zuckerhaltigem Material entstehende Lävulinsäure ätherlöslich ist und mit Pikrinsäurelösung und Natronlauge die *Jaffé*-Reaktion gibt, versuchten wir, einerseits durch Ätherbehandlung eines Zuckerhydrolysates die Kreatinin vortäuschende Substanz zu entfernen und anderseits die Lävulinsäure zu identifizieren.

Die 50 % Zuckerhydrolysat enthaltende Würze wurde mit Schwefelsäure angesäuert und 4 mal mit Äther ausgeschüttelt. Der neutralisierte Rückstand gab mit Pikrinsäurelösung und Natronlauge eine bereits bedeutend schwächere Reaktion. Nach 6-maligem Ausäthern blieb dann die *Jaffé*-Reaktion ganz aus. In den ätherischen Auszügen konnte nach dem Verdampfen des Äthers mit Pikrinsäurelösung und Natronlauge eine sehr schöne rote Färbung erhalten werden. Auch in den Ätherauszügen von über 200 Suppenwürzen verschiedener Marken wurde nach dem Verdampfen des Äthers mit ganz wenigen Ausnahmen eine mehr oder weniger starke *Jaffé*-Reaktion erhalten.

Wir prüften auch noch Acetessigsäure, resp. Acetessigester und Brenztraubensäure auf ihr Verhalten gegen Pikrinsäurelösung und Natronlauge. Acetessigsäure zerfällt schon unter 100° in Aceton und CO_2. Bei der Behandlung mit Salzsäure auf dem Wasserbade würde allfällig vorhandene Acetessigsäure zerstört. Durch einen Versuch konnten wir dies auch bestätigen. Das dabei entstehende Aceton, das selbst eine schöne *Jaffé*-Reaktion gibt, siedet schon bei 56° weg. Brenztraubensäure gibt ebenfalls eine sehr schöne Reaktion, die auch beim Verdünnen mit Wasser auf 500 cm^3 erhalten bleibt. Lässt man aber das Reaktionsgemisch unverdünnt stehen, so verschwindet die Reaktion im Gegensatz zum Kreatinin-Pikrinsäuregemisch schon nach 1 Minute. Sie könnte übrigens auch durch Ätherbehandlung entfernt werden. Wir konnten sie aber weder in Zuckerhydrolysat noch in Würze nachweisen.

Es sei noch vermerkt, dass die Kreatinin vortäuschende Substanz zur Hauptsache erst nach dem Ansäuern in den Äther übergeht, dass es sich somit um eine Säure handeln muss. Durch die Behandlung mit Äther wird kein Kreatinin der Bestimmung entzogen.

Die Identifizierung der Lävulinsäure gelang als Phenylhydrazon. Dieses kristallisiert leicht und hat einen scharfen Schmelzpunkt. Die aus reiner Lävulinsäure, Zucker- und Stärkehydrolysat, sowie aus einer Suppenwürze isolierten Phenylhydrazone verhielten sich beim Schmelzen ganz gleich und zeigten den von *E. Fischer*[23]) angegebenen Schmelzpunkt von 108°, während das Phenylhydrazon der Brenztraubensäure bei 178—183° schmelzen würde.

Da nun Ameisensäure, huminsaures Natrium und Zucker keine Reaktion mit Pikrinsäure und Natronlauge geben und ferner Furfurol nicht nachgewiesen werden konnte, glauben wir annehmen zu dürfen, dass die Lävulinsäure in denjenigen Produkten, bei deren Herstellung kohlenhydrathaltige Stoffe Verwendung finden, die Hauptursache ist für die Kreatinin vortäuschende rote Färbung. Milchsäure gibt nach *Feigl*[10]) keine *Jaffé*-Reaktion, was wir bestätigen konnten. Um für die Kolorimetrierung helle Lösungen zu erhalten, haben wir jeweils der Ätherbehandlung diejenige mit Baryt und Permanganat angeschlossen. Dies scheint uns unbedenklich zu sein, weil wir auf Grund vieler Modellversuche die Überzeugung erhielten, dass bei Gegenwart anderer oxydabler Substanzen Permanganat praktisch kein Kreatinin zerstört. Bei Vermeidung eines zu grossen Überschusses von Baryt wird auch kein Kreatinin zerstört.

Es lässt sich also sagen, dass wir auf Grund unserer Versuche zur Entfernung von Kreatinin vortäuschenden Stoffe mit Hilfe der Ätherbehandlung und Zusatz von Baryt eine Methode ausarbeiten konnten, die es ermöglicht, den Kreatiningehalt von Lebensmitteln genauer als mit den bisher vorgeschlagenen Methoden zu erfassen. Unseres Wissens wurde bisher noch nie versucht, speziell die Lävulinsäure aus Lebensmitteln zu entfernen oder mit Hilfe von Äther Kreatinin vortäuschende Stoffe abzutrennen. Die Ätherbehandlung wurde lediglich für Kreatininbestimmungen in Stoffwechselprodukten zur Entfernung von Acetessigsäure, Aceton, N-Methylhydantoin, Dioxybenzol empfohlen. (*Greenwald*[24]); *F.* und *E. Linneweh*[25]); *Feigl*[10])).

Erfahrungen mit der «Äthermethode»

a) *Suppenwürzen*

In Würzen, die scheinbar Fleischextrakt enthielten, konnte dessen Fehlen nachgewiesen werden. Dagegen enthielten die Ätherauszüge mehr oder weniger Lävulinsäure.

b) *Fleischextrakte*

In Fleischextrakten wird vor und nach der Behandlung mit Äther dieselbe Menge Kreatinin gefunden. In den Ätherauszügen wird keine *Jaffé*-Reaktion erhalten.

c) *Vegetabile Suppenwürfel*

Nach der *Sudendorf*- und *Lahrmann*methode fanden wir in vegetabilen Suppenwürfeln verschiedener Provenienz oft bis zu 10 % scheinbaren Fleischextraktgehalt. Bei Anwendung der «Äthermethode» konnte dann gezeigt werden, dass die fraglichen Produkte gar kein Kreatinin enthalten*).

*) Nach unsern bisherigen Erfahrungen täuscht ein Lävulinsäuregehalt von 1—2 % bis 6 % Fleischextrakt vor. Es konnte auch an verschiedenen Fleischbrühpräparaten gezeigt werden, dass der nach der *Sudendorf*- und *Lahrmann*methode ermittelte Fleischextraktgehalt oft zu hoch ist. Über die angenäherte quantitative Bestimmung der Lävulinsäure berichten wir in einer folgenden Arbeit.

d) *Hefenextrakte*

Micko[11]) konnte in Hefenextrakt kein Kreatinin nachweisen. Ein Hefenextrakt täuschte nach *Sudendorf* und *Lahrmann* 7,6 % Fleischextrakt vor. Das Fehlen von Kreatinin konnte so gezeigt werden, dass die Menge zugesetzten reinen Kreatinins genau wiedergefunden wurde.

Anmerkungen

1. *Stufenphotometer*

In den letzten Jahren wurde von verschiedenen Seiten das Stufenphotometer an Stelle des Kolorimeters von *Dubosq* zur Verwendung empfohlen. Auch wir stellten Versuche mit dem Stufenphotometer «Leifo» an und machten die Beobachtung, dass die Farbe des alkalischen Lävulinsäure-Pikrinsäuregemisches sich nicht vom Kreatinin-Pikrinsäuregemisch unterscheiden lässt, auch dann nicht, wenn bei verschiedenen Wellenlängen gemessen wird. Das Stufenphotometer bedeutet also keine Verbesserung der Methode. Ferner ist zu bemerken, dass schon eine geringe Trübung der Lösung im Stufenphotometer zu falschen Ablesungen führt.

Kassel[26]) empfiehlt bei Benutzung des Pulfrichphotometers das Filter S 53. *Riffart* und *Keller*[27]) vergleichen im Stufenphotometer gegen eine Lösung von 20 cm^3 der Pikrinsäure in 500 cm^3 Wasser. Nach *Bühler*[28]) liegt der Vorteil des Stufenphotometers darin, dass nur Helligkeits- und nicht Farbenunterschiede zu messen sind.

2. *Neuere Methoden*

Kacl und *Fink*[29]) erzeugen in der zu untersuchenden Lösung vermittelst Zinksulfat und NaOH eine Fällung von Zinkhydroxyd, wodurch die störenden «chromogenen Substanzen» entfernt werden sollen. Die Messung erfolgt im Photometer.

Versuche, die wir mit Lävulinsäure anstellten, ergaben, dass letztere nur in Anwesenheit von Fleischextrakt durch Zinkhydroxyd entfernt werden kann. Wir haben hier einen analogen Fall zur «Barytmethode», bei welcher auch die Anwesenheit von Fleischextrakt zur Entfernung der Lävulinsäure vermittelst Baryt erforderlich ist.

Komm und *Leinbrock*[30]) beschreiben die Bestimmung von Kreatinin mit Hilfe von 3,5-Dinitrobenzoesäure.

Da aber Dinitrobenzoesäure auch ein Reagens auf Ketoverbindungen ist, wird auch mit Lävulinsäure die gleiche Färbung erzielt wie mit Kreatinin. Auf eine Reihe weiterer Nachteile bei Anwendung der neuen Methode auf Lebensmittel machen *Baier* und *Walter*[31]) aufmerksam. Wir konnten bestätigen, dass 3,5-Dinitrobenzoesäure in alkoholischer Lösung schon beim Zusatz von Natronlauge allein eine schwache Violettfärbung annimmt.

Schon *Bolliger*[32]) weist darauf hin, dass bei Verwendung von 3,5-Dinitrobenzoesäure Ketonkörper stören. Nach *Schormüller* und *Mohr*[7]) reagiert 3,5-Dinitrobenzoesäure mit den aus Glucose beim Erhitzen mit Säure entstehenden Stoffen. Die Reaktion sei offenbar weniger spezifisch ,als die meisten Untersucher annehmen.

E. Remy[33]) empfiehlt zur Beseitigung der störenden Stoffe die Verwendung von Aluminiumhydroxyd. Nun liegen aber die so erhaltenen Werte noch höher als die nach der Methode des Lebensmittelbuches 3. Auflage erhaltenen. Wir wissen aber, dass letztere Methode gerade wegen der vortäuschenden Stoffe zu hohe Werte liefert. Somit scheint die Behandlung mit Aluminiumhydroxyd keinen Fortschritt zu bedeuten.

Auch die von *Lieb* und *Zacherl*[34]) vorgeschlagene Behandlung der auf Kreatinin zu prüfenden Lösungen mit Natriumwolframat vermag nicht zu befriedigen. Dasselbe gilt für die Trichloressigsäure, die von *Komm* und *Leinbrock*[35]) empfohlen wird ; siehe auch *Koplowitz*[36]).

Methodik

Die an einem grossen Untersuchungsmaterial gewonnenen Erfahrungen führten schliesslich zur nachstehend beschriebenen Methodik, die bei genauer Einhaltung durchaus befriedigende und gut reproduzierbare Ergebnisse liefert.

Kreatininbestimmung in Fleischbrüh- und vegetabilen Produkten :

80 cm³ einer in 100 cm³ 5 g fettfreie Masse*) enthaltenden wässerigen Lösung werden mit konz. Schwefelsäure angesäuert und 6 mal mit je 80 cm³ Äther ausgeschüttelt. 45 cm³ der extrahierten Lösung**) werden nach dem Neutralisieren mit n-NaOH gegen Lackmus mit 10 cm³ kalt gesättigter Barytlösung vermischt und filtriert. Das nach dem Auswaschen mit kaltem Wasser erhaltene Filtrat verdampft man nach Zusatz von 15 cm³ n-HCl auf dem Wasserbade. Der mit wenig Wasser aufgenommene Rückstand wird wieder mit NaOH neutralisiert und dann tropfenweise mit 1 proz. $KMnO_4$-lösung, die 2,5 % NaCl enthält, bis zur Malagafärbung versetzt. Der Permanganatüberschuss wird mit H_2O_2-lösung (3 %; auf 100 cm³ 1 cm³ Eisessig) entfernt. Nach dem Abfiltrieren und Auswaschen des Rückstandes bis zur Chlorfreiheit verdampft man das Filtrat auf dem Wasserbade bis auf ein Volumen von etwa 10 cm³. Nach dem Erkalten

*) Die fettfreie Lösung wird hergestellt, indem das nach dem Auflösen zur Erstarrung gebrachte Fett durch Watte filtriert wird. Nach dem Auffüllen auf 100 cm³ filtriert man durch Filtrierpapier.

**) statt 40 cm³, entsprechend 2 g Substanz. Der Zuschlag von 10 Vol.-% hat sich als richtig erwiesen, da sich Äther etwa in dieser Grössenordnung in der wässrigen Phase löst.

gibt man 15 cm³ kalt gesättigte Pikrinsäurelösung und 10 cm³ 10 proz. NaOH hinzu, vermischt gut, verdünnt nach 5 Minuten auf 500 cm³ mit Wasser und kolorimetriert nach dem Filtrieren innerhalb der ersten 10 Minuten nach der Zugabe der Pikrinsäure und NaOH.

Bei gewissen, viel lösliche Stärke enthaltenden Produkten dürfte es sich empfehlen, die Extraktion mit Äther erst nach der Behandlung mit Salzsäure vorzunehmen, um auch eventuell beim Eindampfen mit HCl gebildete Lävulinsäure zu entfernen.

Kreatininbestimmung in Hefenextrakten:

4 g Hefenextrakt werden in 200 cm³ kaltem Wasser gelöst und nach dem Ansäuern 6 mal mit je 50 cm³ Äther ausgeschüttelt. 110 cm³ der so behandelten Lösung werden wie vorerwähnt weiter behandelt. Vor dem Eindampfen mit Salzsäure gibt man 12 mg reines Kreatinin zu und verfährt weiter wie vorerwähnt. In diesem Fall muss man aber in einem *Dubosq*-Kolorimeter mit optischem Glas ablesen, um genaue Werte zu erhalten. Wir fanden 12,1 mg Kreatinin wieder, wodurch das Fehlen von ursprünglich vorhandenem Kreatinin bewiesen sein dürfte.

Zusammenfassung

1. In fleischextraktfreien, sog. vegetabilen Suppenwürfeln, Hefenextrakten usw. findet man bei Anwendung der Methode des schweizerischen Lebensmittelbuches 3. Auflage oder derjenigen von *Sudendorf* und *Lahrmann* einen scheinbaren Kreatiningehalt.

2. In den von uns untersuchten Lebensmitteln wird vor allem durch Lävulinsäure Kreatinin vorgetäuscht. Diese Substanz gibt mit Pikrinsäurelösung und wässriger Natronlauge die gleiche Rotfärbung wie Kreatinin. Nach Abtrennung der Lävulinsäure mit Äther kann das Kreatinin viel genauer erfasst werden, als dies bisher möglich war. Da Kreatinin von Äther nicht aufgenommen wird, dürfen diejenigen Produkte, welche nach der Ätherbehandlung keine *Jaffé*-Reaktion mehr geben, als praktisch kreatininfrei bezeichnet werden.

3. Für genaue Kreatininbestimmungen, besonders dann, wenn es sich um das Wiederfinden zugesetzten Kreatinins handelt, ist das Kolorimeter von *Duboscq* oder das Stufenphotometer zu verwenden.

4. Es wird eine Vorschrift für die Abtrennung der Lävulinsäure gegeben.

5. Die Erzielung übereinstimmender Ergebnisse bei der Bestimmung des Kreatinins setzt die Anwendung einer genau festgelegten Methode und die Verwendung eines entsprechend geeichten Kolorimeters voraus. Nur auf diese Weise wird es möglich sein, ein Lebensmittel in verschiedenen Laboratorien darauf zu beurteilen, ob es den Anforderungen der Lebensmittelverordnung hinsichtlich des Kreatiningehaltes entspricht.

Résumé

1⁰ En appliquant la méthode du Manuel suisse des denrées alimentaires 3e éd. de même que celle de *Sudendorf* et *Lahrmann* à des préparations de soupes végétales solubles, des extraits de levure, etc. exempts d'extrait de viande, on obtient des résultats faisant croire à une certaine teneur en créatinine.

2⁰ Dans les denrées que nous avons examinées, c'est surtout l'acide lévulique qui réagit comme de la créatinine en donnant la même coloration rouge avec l'acide picrique et la soude caustique. En séparant l'acide lévulique au moyen de l'éther, on peut doser la créatinine beaucoup mieux que ce n'était le cas jusqu'ici. La créatinine n'étant pas soluble dans l'éther, on peut considérer comme pratiquement libre de créatinine les produits qui ne donnent plus de réaction de *Jaffé* après un traitement par l'éther.

3⁰ Pour des dosages précis de créatinine, surtout lorsqu'il s'agit de retrouver de la créatinine ajoutée, il faut employer le colorimètre de *Duboscq* ou de *Pulfrich*.

4⁰ On donne un mode opératoire pour séparer l'acide lévulique.

5⁰ Pour obtenir des résultats concordants lors du dosage de la créatinine il faut appliquer une méthode exactement précisée et employer un colorimètre ajusté en conséquence. De cette façon seulement il sera possible d'apprécier de manière concordante dans différents laboratoires si une même denrée satisfait aux prescriptions de l'ordonnance fédérale réglant le commerce des denrées alimentaires.

Literatur

[1]) Z. physiol. Ch. *41*. 223. (1904).
[2]) Z. U. L. *24*. 572. (1912).
[3]) Z. U. L. *29*. 1. (1915).
[4]) Z. physiol. Ch. *10*. 391. (1886).
[5]) Z. U. L. *58*. 409 (1929).
[6]) Abh. Gesamtgebiete Hyg. Heft 17. 1935. 27
[7]) Z. U. L. *75*. 97. (1938).
[8]) Z. U. L. *68*. 254. (1934).
[9]) Z. physiol. Ch. *52*. 1. (1907).
[10]) Bioch. Z. *81*. 14. (1917).
[11]) Z. U. L. *19*. 426. (1910).
[12]) Mitt. *11*. 37. (1920).
[13]) Z. U. L. *44*. 29. (1922).
[14]) Mitt. *17*. 45. (1926).
[15]) Pharm. Journ. *24*. 683. (1907).
[16]) J. Biol. Chem. *3*. 491. (1907).
[17]) Z. U. L. *27*. 697. (1914).

[18]) Bioch. Z. *114.* 63. (1921).
[19]) Mitt. *26.* 44. (1935).
[20]) Z. ges. exp. Med. *100.* 20. (1937).
[21]) A. *243.* 315. (1888).
[22]) J. Biol. Chem. *21.* 573. (1915).
[23]) A. *236.* 146.
[24]) J. Biol. Chem. *14.* 87.
[25]) Klin. Wschr. *13.* 589. (1934).
[26]) J. Biol. Chem. *100.* 58. (1933).
[27]) Z. U. L. *68.* 113. (1934).
[28]) Z. ges. exp. Med. *93.* 613. (1934).
[29]) Chemický Obzor *12.* 66. 89. 101. (1937).
[30]) Med. Klin. *32.* 1303. (1936).
[31]) Z. U. L. *74.* 281. (1937).
[32]) C. 1936. II. 2762.
[33]) Z. U. L. *74.* 383. (1937).
[34]) Z. physiol. Ch. *223.* 176. (1934).
[35]) Med. Klin. *32.* (1936).
[36]) Bioch. Z. *211.* 475. (1929).

NB. Die Bezeichnung Z. U. L. für die «Zeitschrift für Untersuchung der Lebensmittel» fand auch für die Jahrgänge 1—50 Verwendung.