

Ueber die Bestimmung von Salicylsäure, p-Oxybenzoesäureestern, Benzoesäure und p-Chlorbenzoesäure in Schmelzkäse

Autor(en): **Hostettler, H. / Burri, R.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **24 (1933)**

Heft 4-5

PDF erstellt am: **12.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983841>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ueber die Bestimmung von Salicylsäure, p-Oxybenzoesäureestern, Benzoesäure und p-Chlorbenzoesäure in Schmelzkäse.

Von H. HOSTETTLER.

(Aus dem Chemischen Laboratorium der schweiz. milchwirtsch. und bakt. Anstalt, Liebefeld, Vorstand: Prof. Dr. R. Burri.)

I. Abtrennung der Konservierungsmittel von der Begleitsubstanz.

1. *Dampfdestillation.* Untersuchungen über die Bestimmung von Konservierungsmitteln in Schmelzkäse¹⁾ haben gezeigt, dass es unter Anwendung der Wasserdampfdestillation gelingt, noch Zusätze von $\frac{1}{3}$ bis $\frac{1}{4}$ ‰ Salicylsäure, p-Oxybenzoesäureestern, Benzoesäure und p-Chlorbenzoesäure mit Sicherheit nachzuweisen. Aus den Untersuchungen ging weiter hervor, dass bei der Destillation im Dampfstrom nur ein kleiner Teil der Konservierungsmittel erfasst wird, was neben der allgemeinen Umständlichkeit, mit der die Wasserdampfdestillation verbunden ist, als ein besonderer Nachteil der Methode empfunden wird. Ein vollständiges Abtreiben der Frischerhaltungsmittel würde jedoch ein langausgedehntes Destillieren mit grossen Destillatmengen mit sich bringen. Den Missstand hat *H. Krüger*²⁾ für den Nachweis von Benzoesäure in Hackfleisch in der Weise überwunden, dass er den Siedepunkt der Destillationsflüssigkeit durch Zusatz von Schwefelsäure so erhöhte, dass die Benzoesäure mit Wasserdampf sehr rasch abgetrieben wird. Eigene Versuche an Schmelzkäse mit einem Benzoesäuregehalt von 0,25‰ ergaben folgendes Ergebnis:

a) *Gewöhnliche Dampfdestillation.* 10 g Käse wurden mit 25 cm³ heissem destilliertem Wasser emulgiert, 10 cm³ 10%ige Schwefelsäure zugefügt und Dampf durchgeleitet. Unter dem mit der Käsemasse beschickten Kolben wird ebenfalls eine kleine Flamme angezündet, so dass das Flüssigkeitsvolumen im Kolben möglichst gleich bleibt.

Fraktion	Volumen des Destillates	Gefundene Benzoesäure
I	250 cm ³	1,0 mg
II	250 »	0,25 »
III	250 »	0,10 »
IV	250 »	0,10 »

b) *Destillation nach Krüger.* 10 g Käse wurden mit 10 cm³ 70%iger Schwefelsäure versetzt und der Dampfdestillation unterworfen.

Fraktion	Volumen des Destillates	Gefundene Benzoesäure
I	250 cm ³	2,0 mg
II	250 »	0,25 »
III	250 »	0
IV	250 »	0

Die gewöhnliche Dampfdestillation ergab somit eine Ausbeute von 1,45 mg oder 58% und die Destillation nach Krüger eine solche von 2,25 mg oder 90% der in der Käsemasse vorhandenen Benzoesäuremenge. Die Verwendung von 70%iger Schwefelsäure bei der Destillation nach Krüger bringt es jedoch mit sich, dass sehr grosse Mengen von Fettsäuren ins Destillat gehen, die beim Ausschütteln mit organischen Lösungsmitteln ebenfalls aufgenommen werden, die Konservierungsmittel verunreinigen und deren Nachweis beeinträchtigen. Die Bestimmung der Benzoesäure in vorliegendem Versuch war nur möglich, wenn das Destillat vor dem Ausschütteln mit Aether einer Reinigung mit 5%igem Kaliumpermanganat unterzogen wurde. Ohne diese Reinigung des Destillates konnte die Benzoesäure nicht nachgewiesen werden.

Die Umständlichkeit und die geringe Ausbeute an Konservierungsmitteln bei der Dampfdestillation und die Nachteile, die bei der Destillation nach Krüger bei fettreichen Substanzen in Erscheinung treten, lassen die Dampfdestillation als ein zu wenig geeignetes Abtrennungsverfahren erscheinen.

2. Die direkte Extraktion der Substanz mit Aether.

In der Literatur wird zur Abtrennung von ätherlöslichen Konservierungsmitteln von den übrigen Stoffen vielfach vorgeschlagen, die der Untersuchung zu unterwerfende Substanz mit Wasser zu verreiben, anzusäuern und den Substanzbrei direkt mit Aether auszuschütteln. Da wir bei Schmelzkäse bei einzelnen auf diese Weise vorgenommenen Untersuchungen keine guten Ergebnisse erhalten hatten, fanden wir es für angebracht an einigen Fabrikationsmustern, die geringe Mengen Konservierungsmittel enthielten, einige Analysen durchzuführen. In Parallele dazu wurde die Bestimmung der Konservierungsmittel unter Anwendung der Dampfdestillation vorgenommen.

Zu diesem Zwecke stellten wir uns eine Reihe Schmelzkäsemuster her, denen wir verschiedene Mengen von Salizylsäure, p-Oxybenzoesäureestern (Gemisch von Methyl-, Aethyl- und Propylester), Benzoesäure und p-Chlorbenzoesäure zusetzten. Dies geschah in der Weise, dass wir in 500 cm³ Bechergläser bestimmte Mengen Konservierungsmittel abwogen, sie mit einigen Tropfen $\frac{n}{100}$ Natronlauge in Lösung brachten und zu diesen Lösungen aus der Schmelzkäseabfüllmaschine 100—120 g Schmelzkäse unter kräftigem Rühren zusetzten.

Mit den auf die Weise hergestellten Käsemustern wurden folgende Versuche ausgeführt:

a) 10—20 g werden in einem 500 cm³ Rundkolben mit destilliertem Wasser emulgiert, mit 10 cm³ 10%iger Schwefelsäure versetzt und Dampf durchgeleitet. Im Destillat werden die betreffenden Konservierungsmittel nach der schon früher beschriebenen Methode¹⁾ nachgewiesen.

b) Nach der von *Th. v. Fellenberg* und *St. Krauze*³⁾ ausgearbeiteten, auch für die Käse und andere Molkereiprodukte empfohlenen Methode werden 25 g Käse mit etwas Wasser und 2,5 cm³ verdünnter Schwefelsäure (1:4) verrieben, die Masse in einen Erlenmeyerkolben verbracht und mit der doppelten Menge Aether gut durchgeschüttelt. Man fil-

Tabelle I.

Käse Nr.	Zugesetztes Konservierungsmittel in ‰	Gefundene Menge Konservierungsmittel nach				
		a		b		c
		Käsemasse direkt der Dampfdestillation unterworfen gefunden	berechnet	Käsemasse verrieben und unmittelbar mit Aether extrahiert gefunden	berechnet	Dampfdestillation der nach Extr. mit Aether nach b auf dem Filter verbl. Masse gefunden
		mg	mg	mg	mg	mg
1	0,35 Benzoessäure	3	7	0	8,75	0,6
		2	3,5			
2	0,70 »	5	14	0	17,5	1,3
		1,8	7			
3	1,0 »	8,5	20	0	25	1,0
		2,5	10			
4	0,26 Salicylsäure	1,08	5,2	0,05	6,5	0,27
		0,90	2,6			
5	0,64 »	2,50	12,8	1,0	16	1,03
		2,50	6,40			
6	0,70 p-Oxybenzoessäureester . . .	0,20	14	0,40	17,5	0,20
		0,30	7			
7	0,35 »	0,4	7	0,2	8,75	0,05
		0,2	3,5			
8	0,30 p-Chlorbenzoessäure	2,62	6,0	0	7,5	0,704
		1,565	3,0			
9	0,58 »	4,225	11,6	0	14,5	1,638
		4,828	5,80			
10	0,23 Benzoessäure	0,75	4,6	0,1	5,75	0,075
	0,27 Salicylsäure	1,95	5,4	0,2	6,75	0,6
	0,25 p-Oxybenzoessäureester . . .	0,90	5	0,4	6,25	0
	0,21 p-Chlorbenzoessäure	2,724	4,2	0	5,25	0,89
11	ohne Zusatz					
	Salicylsäure	0		0		
	p-Oxybenzoessäureester	0		0		
	Benzoessäure	0		0		
	p-Chlorbenzoessäure	0		0		
22	ausl. Camembert, Zusatz unbekannt					
	Salicylsäure	0		0		0
	p-Oxybenzoessäureester	0		0		0
	Benzoessäure	4,5		0		3,0
	p-Chlorbenzoessäure	0		0		0
23	Rahmkäse, Zusatz unbekannt . . .					
	Salicylsäure	0		0		0
	p-Oxybenzoessäureester	0		0		0
	Benzoessäure	0,6		0		0,19
	p-Chlorbenzoessäure	0		0		0

triert und wäscht mit 25 cm³ Aether nach. Die Konservierungsmittel sollen nun in den Aether übergetreten sein, der in gegebener Weise weiter verarbeitet wird.

c) Bei einzelnen Untersuchungen von zur Begutachtung eingesandten Schmelzkäsemustern hatten wir schon früher die Beobachtung gemacht, dass es nicht gelingt, mit organischen Lösungsmitteln geringe Mengen Konservierungsmittel aus der Käsemasse unmittelbar zu extrahieren. Wir vermuteten, dass diese Stoffe von der Käsemasse zurückgehalten werden. Um diese Frage abzuklären, haben wir die nach der Extraktion mit Aether nach b auf dem Filter verbleibende Masse noch der Dampfdestillation unterworfen und das Destillat auf Frischerhaltungsmittel untersucht.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen nach a, b und c finden wir in Tabelle I zusammengestellt.

Gleiche Untersuchungen wurden mit Butterproben vorgenommen, denen wir ebenfalls bestimmte Mengen Konservierungsmittel zugesetzt hatten. Dies geschah in der Weise, dass wir 100—150 g Butter schmelzen und Konservierungsmittel in gelöster Form hineinrührten. Die Ergebnisse sind in Tabelle II zusammengestellt.

Tabelle II.

Butterprobe Nr.	Zugesetztes Konservierungsmittel in ‰	Gefundene Menge Konservierungsmittel nach						
		a		b		c		
		Käsemasse direkt der Dampfdestillation unterworfen		Käsemasse verrieben und unmittelbar mit Aether extrahiert		Dampfdestillation der nach Extr. mit Aether nach b auf dem Filter verbl. Masse		
		gefunden	berechnet	gefunden	berechnet	gefunden		
		mg	mg	mg	mg	mg		
25	0,40 Benzoessäure	0,85	4,0	0	10	—		
26	0,40 Salicylsäure	0,94	4,0	0,05	10	0,22		
27	0,40 p-Oxybenzoessäureester	0,45	4,0	0,50	10	0		
28	0,40 p-Chlorbenzoessäure	1,526	4,0	0	10	2,673		
29	{ 0,36 Benzoessäure	1,70	7,2	0	9,0	0,22		
		{ 0,36 Salicylsäure	2,04	7,2	0	9,0	1,62	
			{ 0,36 p-Oxybenzoessäureester	1,70	7,2	0	9	0
				{ 0,36 p-Chlorbenzoessäure	1,78	7,2	0,155	9

Es ergibt sich aus diesen Tabellen, dass die Extraktion der angesäuerten Käse- und Buttermasse mit Aether nicht gestattet, die angeführten Konservierungsmittel mit Sicherheit nachzuweisen. Die mit Aether extrahierte Masse enthält nach den Angaben in den Tabellen I und II stets noch erhebliche Mengen der Konservierungsmittel.

Ein weiterer grosser Mangel dieser Arbeitsweise ist der, dass bei der unmittelbaren Extraktion von Butter und Schmelzkäse mit Aether sehr viel Verunreinigungen in die aetherische Lösung gehen, so dass die Frischerhaltungsmittel nicht mit der gewünschten Reinheit gewonnen werden können. Gerade

beim Nachweis der Benzoesäure nach der Mohlerschen Probe führen Verunreinigungen vielfach zu einem negativen Ergebnis, indem die entstehenden Färbungen für Benzoesäure nicht charakteristisch sind.

3. Fällung der Eiweissubstanzen nach Carrez mit Ferrocyankalium und Zinksulfat.

Um die Konservierungsmittel in eine mit organischen Lösungsmitteln ausschüttelbare von Eiweiss und Fett befreite wässrige Lösung überzuführen, erwies sich die von *Grossfeld* zum Nachweis kleiner Mengen Benzoesäuren in Milch, Butter, Margarine, Fleisch und Eigelb⁴⁾ mit Erfolg angewendete Klärung nach *Carrez* mit Ferrozyankalium und Zinksulfat als sehr geeignet. Mit sehr gutem Ergebnis wurde diese Methode ebenfalls von *J. Schwaibold*⁵⁾ zum Nachweis von Benzoesäure und p-Chlorbenzoesäure in Käse angewendet.

Die Methode besteht darin, dass die zu untersuchende Substanz auf dem Wasserbad mit überschüssigem Alkali digeriert und nach dem Erkalten mit 15%iger Ferrozyankali- und 30%iger Zinksulfatlösung gefällt wird. Es wird auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt, filtriert, und vom Filtrat, das fett- und nahezu eiweissfrei ist, aliquote Mengen mit Schwefelsäure angesäuert und mit einem organischen Lösungsmittel ausgeschüttelt.

Während wir auf diese Weise bei Benzoesäure, Salicylsäure und p-Chlorbenzoesäure sehr gute Ausbeuten erhielten, zeigten sich bei den p-Oxybenzoesäureestern nur schlechte Ergebnisse. Wird die Menge des zugesetzten Alkalis erhöht, so nimmt deren Ausbeute weiter ab und es ist anzunehmen, dass beim Behandeln der Käsemasse im siedenden Wasserbad die Ester verseift werden.

Um zu besseren Werten zu gelangen, haben wir die Menge der zugesetzten Natronlauge variiert und die Käsemasse bei verschiedenen Temperaturen aufgeschlossen. Es gelang uns jedoch nicht, zu einem für die p-Oxybenzoesäureester zufriedenstellenden Ergebnis zu gelangen. Mit 40 bis 50% Ausbeute mussten wir uns schliesslich zufrieden geben. Unsere Arbeitsweise war nun folgende: 10—20 g Käse werden mit 50 cm³ 50—55° warmem Wasser (nicht wärmer) vollständig verrieben bis sich eine gleichmässige Emulsion gebildet hat und keine Knollen mehr vorhanden sind. Danach wird in einen Kolben von 300 cm³ übergeführt und mit 150 cm³ warmem Wasser nachgespült und der Kolben unter mehrmaligem Schütteln noch 15 Minuten in ein 50° warmes Wasserbad gestellt. Nun werden 40 cm³ $\frac{1}{4}$ normal Natronlauge zugefügt und unter mehrmaligem Schütteln 30 Minuten stehen gelassen. Nach dem Erkalten wird nach *Carrez* gefällt, indem man soviel cm³ einer 15%igen Ferrocyankalilösung zufügt als Gramm Substanz verwendet wurden, schüttelt und ebensoviel cm³ einer 30% Zinksulfatlösung zugibt. Beim nunmehrigen Schütteln soll deutlich sichtbar die Fällung eintreten, indem

sich ein dickflüssiger Niederschlag bildet. Nun wird zur Marke aufgefüllt und filtriert, wobei die Flüssigkeit rasch durch das Filter laufen und alkalische Reaktionen zeigen soll.

Grosse Aufmerksamkeit war der Wahl des organischen Lösungsmittels, mit dem das Filtrat ausgeschüttelt werden sollte, geschenkt. *Grossfeld*⁴⁾ führt die in seinen Untersuchungen beim Ausschütteln kleiner Mengen Benzoesäure beobachteten schlechten Ausbeuten auf ungenügendes Ausschütteln zurück. Die Ausschüttelung mit Benzol führt danach nur dann zu einem guten Ergebnis, wenn in 100 cm³ der wässrigen Lösung wenigstens 5—10 mg Benzoesäure vorhanden sind. Zur Ausschüttelung kleiner Benzoesäuremengen empfiehlt der Autor die Verwendung von Aether. Für uns galt es zunächst abzuklären ob beim Ausschütteln mit Aether die Konservierungsmittel in genügender Reinheit isoliert werden können oder ob nicht Verunreinigungen mit aufgenommen werden, die dann den Nachweis der zu bestimmenden Körper beeinträchtigen. Zu dem Zwecke wurden 20 g eines Schmelzkäses, der keine Frischerhaltungsmittel enthielt, wie angegeben verarbeitet und aliquote Teile des Filtrates angesäuert und dreimal mit 30 cm³ Aether ausgeschüttelt. Folgende Proben wurden ausgeführt:

1. 25 cm³ zur Probe auf Salicylsäure,
2. 25 cm³ zur Probe auf p-Oxybenzoesäureester und Benzoesäure und
3. 50 cm³ zur Probe auf p-Chlorbenzoesäure.

Das Ergebnis war folgendes:

- Probe auf Salicylsäure (mit Ferrichlorid) negativ,
 » » p-Oxybenzoesäureester (mit Millons Reagens) positiv,
 » » Benzoesäure (nach Mohler-Grossfeld) negativ,
 » » p-Chlorbenzoesäure (Chlornachweis) negativ.

Ferner wurden 20 g Käse, in dem 0,25⁰/₀₀ Benzoesäure enthalten waren, auf Benzoesäure geprüft. An Stelle der bei der Mohler'schen Probe mit reiner Benzoesäure sich einstellenden, mit Eisenrhodanidlösung vergleichbaren Rotfärbung zeigte sich bei Vornahme der Reaktion ein braunroter, mit der richtigen Färbung kolorimetrisch nicht vergleichbarer Farbton.

Bei einem Käse, der 0,25⁰/₀₀ Salicylsäure enthielt wurden in 20 g Substanz 4,8 mg Salicylsäure gefunden; das sind 96% der berechneten Mengen. Es zeigte sich aber auch hier, dass die Färbung rasch wechselt und abnimmt, so dass die Verwendung von Aether zum Ausschütteln der Salicylsäure ebenfalls als nachteilig sich erweist.

Aus einem Käse, der 0,25⁰/₀₀ p-Chlorbenzoesäure enthielt, wurden bei Verarbeitung von 20 g Substanz 4,88 mg und bei Verarbeitung von 10 g Substanz 2,04 mg von dieser Säure gefunden. Die Extraktion des Filtrates mit Aether eignet sich danach nur für den Nachweis der p-Chlorbenzoesäure.

Daraufhin sind wir dazu übergegangen, die zu extrahierende Flüssigkeit mit Aether und Petroläther auszuschütteln. Aliquote Mengen des Filtrates werden mit verdünnter Schwefelsäure (1:3) angesäuert, mit 10 cm³ Alkohol versetzt und 30 Sekunden mit 15 cm³ Aether geschüttelt. Dann werden gleich 15 cm³ Petroläther (Petroleumäther Merck, leichtsiedend bis ca. 40°) zugegeben und wieder 30 Sekunden geschüttelt. Dieses Ausschütteln mit Aether und Petroläther wird noch zweimal wiederholt. Auf diese Weise wurden sehr gute Ergebnisse erhalten wie folgende Angaben zeigen: Zu 25 cm³ Filtrat von einem Käse der keine Konservierungsmittel enthielt, wurde 1 mg p-Oxybenzoesäureester zugesetzt, wieder gefunden 0,94 mg. Dasselbe wurde wiederholt mit einem Zusatz von 0,5 mg mit p-Oxybenzoesäureester, gefunden 0,5 mg. Das Filtrat an sich mit Aether und Petroläther ausgeschüttelt ergab gar keine Reaktion.

Zu 25 cm³ Filtrat, die nach Berechnung 0,208 mg Benzoesäure enthielten wurden 0,6 mg Benzoesäure zugesetzt. Gefunden wurde 0,81 mg. Von 0,5 mg Salicylsäure zu 25 cm³ desselben Filtrates zugefügt wurden 0,48 mg wiedergefunden und von 1 mg p-Chlorbenzoesäure 0,98 mg. Die vorhandenen Mengen Konservierungsmittel werden beim Ausschütteln mit Aether und Petroläther nahezu vollständig extrahiert. Die Reihenfolge Aether-Petroläther ist dabei innezuhalten. Das Ausschütteln mit Petroläther allein oder mit einem vorher hergestellten Gemisch beider Aether führt zu schlechten Ergebnissen.

Die Fällung mit Ferrocyankalium und Zinksulfat gestattet somit die in Schmelzkäse vorhandenen Konservierungsmittel von Fett und Eiweissubstanzen zu trennen und in eine wässrige, mit organischen Lösungsmitteln ausschüttelbare Lösung überzuführen. Aus dem angesäuerten, mit Alkohol versetzten Filtrat können sie mit Aether und Petroläther ausgeschüttelt und in der für ihren Nachweis notwendigen Reinheit abgetrennt werden.

II. Nachweis der Konservierungsmittel.

1. *Salicylsäure.* Für den Nachweis der Salicylsäure werden 25 cm³ Filtrat mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert, mit 10 cm³ Alkohol versetzt und, wie oben angegeben, abwechslungsweise mit Aether und Petroläther ausgeschüttelt. Die erhaltene ätherische Lösung wird zunächst mit 5 cm³ destilliertem Wasser gewaschen, danach mit 1 cm³ $\frac{n}{4}$ -NaOH 1 Minute durchgeschüttelt. Den alkalischen Auszug gibt man in einen Messzylinder, wäscht den Aether noch zweimal mit 1 cm³ Wasser nach, gibt dieses ebenfalls in den Zylinder und füllt auf 10 cm³ auf. Von dieser Lösung wird ein aliquoter Teil auf 12 cm³ aufgefüllt, 0,1 cm³ einer 0,5%igen mit verdünnter Salzsäure angesäuerten Ferrichloridlösung zugesetzt und geschüttelt. Die eingetretene Färbung wird im Kolorimeter mit der Färbung, die mit bekannten Salicylsäuremengen erhalten wird, verglichen.

2. *p*-Oxybenzoesäureester. Der Nachweis erfolgt mit Millons-Reagens, doch wird die Reaktion in der von *von Fellenberg* und *Krauze*³⁾ ausgearbeiteten Modifikation ausgeführt. Da Salicylsäure eine ähnliche Farb-reaktion ergibt, hat man sich vorerst nach der oben beschriebenen Methode von deren An- oder Abwesenheit zu überzeugen. Ist Salicylsäure abwesend, so verfährt man gleich wie unter a angegeben. Die nach Ausschütteln von 25 cm³ Filtrat mit Aether und Petroläther erhaltene ätherische Lösung wird mit 5 cm³ destilliertem Wasser gewaschen und danach der Aether in einem Erlenmeyerkolben durch Aufstellen auf einen Trockenschrank abgedunstet. Der Rückstand wird durch mehrmaliges Ausspülen des Kölbchens mit wenig Aether quantitativ in ein Reagensglas übergeführt, der Aether wiederum vorsichtig abgedunstet und die Reaktion mit Millons-Reagens vorgenommen: 2 cm³ Quecksilbersulfat (Reagens Denigès zum Zitronensäurenachweis) werden hinzugegeben, genau 2 Minuten im siedenden Wasserbad erhitzt, abgekühlt, 3 Tropfen 2%ige Natrumnitritlösung zugegeben und die sich einstellende Färbung nach einer Stunde im Kolorimeter mit der Farbe, die mit bekannten Mengen erhalten wird, verglichen.

Ist Salicylsäure anwesend, so hat man diese vorerst abzutrennen. In früheren Untersuchungen¹⁾ wurde hiezu das Ausschütteln der ätherischen Lösung mit $\frac{1}{20}$ normal Natronlauge vorgeschlagen. Bei Vorliegen geringer Mengen *p*-Oxybenzoesäureester können diese von der Natronlauge aufgenommen werden, so dass eine Trennung von den ebenfalls anwesenden Säuren nicht erreicht wird. Dasselbe ist der Fall, wenn nach dem Vorschlag von *Th. von Fellenberg* und *St. Krauze*³⁾ 10%ige Sodalösung verwendet wird. Eine nahezu quantitative Trennung der *p*-Oxybenzoesäureester von Salicylsäure, Benzoesäure und *p*-Chlorbenzoesäure lässt sich erreichen, bei Verwendung von frisch hergestellter gesättigter Natriumbikarbonatlösung. Zur Prüfung dieser Frage haben wir zunächst steigende Mengen von *p*-Oxybenzoesäureestern in ätherische Lösung mit Bikarbonatlösung aufzuschütteln versucht:

20 cm³ Aether die 1 mg *p*-Oxybenzoesäureester enthielten, wurden mit 1 cm³ Bikarbonatlösung ausgeschüttelt, der Aether noch zweimal mit 1 cm³ destilliertem Wasser gewaschen, alkalischer Auszug und Waschwasser vereinigt und ihrerseits wiederum mit 2 cm³ Aether ausgeschüttelt. Die 2 cm³ Aether werden zum übrigen Aether gefügt und nun in beiden Teilen, in der ätherischen Lösung und im alkalischen Auszug auf *p*-Oxybenzoesäureester geprüft: Der alkalische Auszug zeigte eine verschwindend schwache Färbung. Der nach Abdunsten des Aethers verbleibende Rückstand ergab nach Vornahme der Millon'schen Reaktion eine Farbtiefe, die von der mit 1 mg *p*-Oxybenzoesäureester unmittelbar erhältlichen nicht zu unterscheiden war. Dasselbe ergab sich bei Vornahme obiger Operation mit 5 und 10 mg *p*-Oxybenzoesäureester. Die in

der wässrigen Phase verbleibende Estermenge beträgt ca. 0,005 mg. Bei Anwesenheit von 1 mg Ester beträgt der Fehler sonach 0,5%, bei grösseren Ester Mengen ist er entsprechend kleiner.

Es wurde nun weiter geprüft, ob 1 mg und 5 mg Salicylsäure und 1 mg und 5 mg Benzoesäure in 20 cm³ Aether gelöst mit gesättigter Natriumbikarbonatlösung in der beschriebenen Weise aus der ätherischen Lösung ausgeschüttelt werden können. Es wurden gefunden Salicylsäure 0,95 bzw. 4,95 mg, Benzoesäure 1,0 bzw. 5,0 mg.

Im weitem wurde nun an einigen Käsefiltraten p-Oxybenzoesäureester von Benzoesäure zu trennen versucht. Zu 25 cm³ Filtrat, die 0,21 mg Benzoesäure enthielten wurden 0,5 mg p-Oxybenzoesäureester zugefügt und in der schon beschriebenen Weise mit Aether und Petroläther ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung wurde mit 5 cm³ Wasser gewaschen und, wie beschrieben, mit Bikarbonatlösung weiter behandelt. Im alkalischen Auszug wurde, wie weiter unten angegeben, auf Benzoesäure geprüft, der Aether dagegen zur Probe auf p-Oxybenzoesäureester in der angegebenen Weise verwendet. Wir haben gefunden, 0,5 mg p-Oxybenzoesäureester und 0,2 mg Benzoesäure. Ein gleicher Versuch wurde wiederholt mit 25 cm³ Filtrat, die 0,42 mg Benzoesäure enthielten. Es wurden gefunden, 0,48 mg p-Oxybenzoesäureester und 0,42 mg Benzoesäure. Die Trennung der Ester von den angeführten Säuren erfolgt somit auf diese Weise nahezu quantitativ.

3. *Benzoesäure.* Der Nachweis der Benzoesäure erfolgt nach der von Grossfeld ausgearbeiteten Modifikation der Mohler'schen Reaktion. Es ist auf diese Weise möglich, noch Benzoesäuremengen bis zu 0,02 mg zu erkennen. Da Salicylsäure und p-Oxybenzoesäureester die Reaktion stören, hat man sich von deren An- oder Abwesenheit zu überzeugen. Sind sie anwesend, so ist die unter 5. beschriebene Trennung durchzuführen. Sind sie abwesend, so wird die Benzoesäure aus dem alkalischen Käsefiltrat, wie bei Salicylsäure angegeben, mit Aether und Petroläther ausgeschüttelt und die ätherische Lösung mit 1 cm³ $\frac{n}{4}$ -NaOH ausgezogen. Der alkalische Auszug aus der ätherischen Lösung wird in einem Reagensglas durch Einstellen in ein Wasserbad und Ueberleiten von Luft getrocknet. Danach wird 1 cm³ konzentrierte Schwefelsäure, die 10% Kaliumnitrit enthält, zugegeben und 20 Minuten im siedenden Wasserbad erhitzt. Es wird gekühlt, mit 2 cm³ Wasser verdünnt, wieder gekühlt, 2 cm³ 2%ige Hydroxylaminchlorhydratlösung zugegeben, danach mit ca. 15%iger Ammoniaklösung alkalisch gemacht, durchgeschüttelt und 5 Minuten in ein Wasserbad von 60° gestellt. Danach wird wieder abgekühlt und die eingetretene Färbung im Kolorimeter mit der Färbung, die mit bekannten Benzoesäuremengen erhalten wird, verglichen.

4. *p-Chlorbenzoesäure.* Zum Nachweis der p-Chlorbenzoesäure diente uns der Chlornachweis. Hiezu bedienten wir uns der von *Zacherl* und

*Krainick*⁶⁾ ausgearbeiteten Chlorbestimmungsmethode unter Verwendung der von den Autoren konstruierten Apparatur. Die Methode besteht darin, dass die zu untersuchende Substanz in einem Oxydationskölbchen mit einem Gemisch von Kaliumbichromat und Silberbichromat (1:1) und konzentrierter Schwefelsäure oxydiert und das sich entwickelnde elementare Chlor mit einem Sauerstoffstrom in eine mit 1 cm³ Perhydrol und 5 cm³ 1/100-normal Natronlauge beschickte Vorlage übergetrieben wird. Hier wird das Chlor zu Salzsäure reduziert, die von der Natronlauge sofort gebunden wird. Während die Autoren empfehlen, den Verbrauch an Alkali als Mass für die vorhandene Chlormenge zu verwenden, haben wir das übergeführte Chlor nach *Volhard* titriert. Die in der Vorlage vorhandene Lösung wird zu dem Zwecke in einen Erlenmeyerkolben gebracht, die Vorlage dreimal mit 5 cm³ Wasser nachgespült, die Lösung mit Salpetersäure angesäuert und aus einer 1/100 cm³ geteilten Bürette 1/200-normal Silbernitratlösung im Ueberschuss zugegeben. Man fügt 0,5 cm³ gesättigte Eisenammonalaunlösung zu und titriert mit 1/200-normal Kaliumrhodanidlösung zurück. Den bei der Chlortitration nach *Volhard* infolge Umsatzes des Silberchloridniederschlags mit Rhodanidion auftretenden Fehler suchten wir zu vermeiden, indem wir nach dem Vorschlag von *V. Rothmund* und *A. Burgstaller*¹⁰⁾ die mit Silbernitrat versetzte Chloridlösung unter Umrühren erhitzen bis das Silberchlorid sich zusammengeballt hatte. Wir haben die Methode der Chlorbestimmung mit abgewogenen Mengen p-Chlorbenzoesäure überprüft. Der Chlorgehalt der p-Chlorbenzoesäure beträgt 22,66%, und 1 cm³ verbrauchte 1/200-normal Silbernitratlösung entspricht 0,7824 mg Chlorbenzoesäure. Die Bestimmungen ergaben folgende Werte:

Tabelle III.

p-Chlorbenzoesäure	
berechnet	gefunden
0,5 mg	0,5086 mg
0,5 »	0,493 »
1,0 »	1,04 »
1,0 »	0,944 »
2,0 »	1,956 »
2,0 »	2,064 »
3,0 »	3,049 »

Die Bestimmung der p-Chlorbenzoesäure im Käsefiltrat geht in der Weise vor sich, dass 50 cm³ angesäuert, mit Alkohol versetzt und mit Aether und Petroläther ausgeschüttelt werden. Die ätherische Lösung wird zweimal mit 5 cm³ Wasser gewaschen, der Aether abgedunstet, der Rückstand durch Aufnehmen mit Aether quantitativ in das Oxydationskölbchen übergeführt, der Aether vertrieben und im Rückstand die Chlorbestimmung vorgenommen.

5. Nachweis von Salicylsäure, p-Oxybenzoesäureester, Benzoesäure und Chlorbenzoesäure nebeneinander.

a) Von dem etwa 225 cm³ betragenden Filtrat werden 25 cm³ für die Bestimmung der Salicylsäure verwendet.

b) 25 cm³ dienen zur Bestimmung der p-Oxybenzoesäureester und der Benzoesäure. Hat die vorausgehende Prüfung ergeben, dass Salicylsäure anwesend ist, so ist der nach Ausschütteln der ätherischen Lösung mit Alkali erhaltene Auszug einer Reinigung mit 5%iger Kaliumpermanganatlösung zu unterziehen um die Salicylsäure zu zerstören. Die alkalische Lösung wird auf ca. 50° erwärmt und das Permanganat tropfenweise zugefügt bis die Rotfärbung einige Minuten bestehen bleibt. Nach dem Erkalten wird mit schwefliger Säure und Schwefelsäure farblos gemacht, die Lösung mit Alkohol versetzt, mit Aether und Petroläther ausgeschüttelt und weiter behandelt wie schon angegeben.

Ist Salicylsäure abwesend, p-Oxybenzoesäureester dagegen anwesend, so führt das Ausschütteln der ätherischen Lösung mit Natriumbicarbonatlösung eine genügende Trennung der Ester und der Benzoesäure herbei, so dass für letztere eine besondere Reinigung sich erübrigt und eine Beeinflussung der Reaktion auf Benzoesäure durch die p-Oxybenzoe-

Tabelle IV.

Käse Nr.	Zugesetzte Menge Konservierungsmittel in ‰	Verwendete Substanzmenge	Konservierungsmittel	
			gefunden	berechnet
		g	mg	mg
12	ohne Zusatz auf Benzoesäure, Salicylsäure, p-Oxybenzoesäureester und p-Chlorbenzoesäure geprüft .	20	alle 4 negativ	
13	0,25 Benzoesäure	10	2,52	2,50
14	0,50 Benzoesäure	10	5,00	5,00
		20	10,00	10,00
15	0,25 Salicylsäure	20	4,80	5,00
		10	2,48	2,50
16	0,50 Salicylsäure	10	4,95	5,00
17	0,25 p-Oxybenzoesäureester	10	1,3	2,50
19	0,25 p-Chlorbenzoesäure	20	4,88	5,00
20	0,50 p-Chlorbenzoesäure	20	9,92	10,00
21	0,23 { Benzoesäure Salicylsäure p-Chlorbenzoesäure p-Oxybenzoesäureester	10	2,21	} 2,30
			2,16	
			2,07	
			1,20	
21	0,23 { Benzoesäure Salicylsäure p-Chlorbenzoesäure p-Oxybenzoesäureester	20	4,20	} 4,60
			3,96	
			4,42	
			2,5	
22	0,25 p-Oxybenzoesäureester	10	1,20	2,50
	0,50 p-Chlorbenzoesäure		4,98	5,00

säureester nicht zu befürchten ist. Die Anwesenheit kleiner Mengen p-Chlorbenzoesäure vermag die endgültige Färbung des Benzoensäurenachweises nur unerheblich zu beeinflussen.

c) 50 cm³ Filtrat dienen zum Nachweis der p-Chlorbenzoesäure, der wie unter 4 angegeben erfolgt.

Der kolorimetrische Vergleich der bei den verschiedenen Reaktionen erhaltenen Färbungen erfolgte in einem Zeiss-Kolorimeter. Die Ausführungen von *F. J. Hahn* und *R. Klockmann*⁷⁾, *N. E. Pestow*⁸⁾ und *F. J. Hahn*⁹⁾ über die Methodik des Kolorimetrierens wurden hiebei weitgehend zu Nutze gezogen.

Die an verschiedenen Käsemustern vorgenommenen Bestimmungen führten zu den in Tabelle IV zusammengestellten Ergebnissen. Es geht daraus hervor, dass es auf diesem Wege gelingt, Salicylsäure, Benzoesäure und p-Chlorbenzoesäure zu nahezu 100% aus dem Schmelzkäse zu extrahieren und nachzuweisen. Bei den p-Oxybenzoesäureestern beträgt die erhaltene Ausbeute 40—50% der in der Käsemasse vorhandenen Menge.

Zusammenfassung.

1. Eine Arbeitsmethode ist beschrieben, die gestattet Salicylsäure, p-Oxybenzoesäureester, Benzoesäure und p-Chlorbenzoesäure in Schmelzkäse, dem sie in Mengen von 0,23—0,50%₀₀ einzeln wie in Gemischen zugesetzt waren, mit Sicherheit nachzuweisen. Durch Auflösen der Käsemasse in warmem Wasser und $\frac{n}{4}$ Natronlauge und Fällung mit 15%iger Ferrocyankalium- und 30%iger Zinksulfatlösung gelingt es, die Konservierungsmittel in eine wässrige, fett- und eiweissfreie Lösung überzuführen, aus der sie mit Aether und Petroläther ausgeschüttelt werden können.

Die erhaltene Ausbeute beträgt bei Salicylsäure, Benzoesäure und p-Chlorbenzoesäure 95—100% und bei den p-Oxybenzoesäureestern (Gemisch von Methyl-, Aethyl- und Propylester) 40—50% der im Schmelzkäse vorhandenen Menge.

2. Die Nachweisreaktionen der einzelnen Konservierungsmittel sind beschrieben.

Literatur.

- 1) *H. Hostettler*, diese Ztschr., **23**, 65, 1932.
- 2) *A. Krüger*, Z. U. N. G., **26**, 12, 1913.
- 3) *Th. v. Fellenberg* u. *St. Krauze*, diese Ztschr., **23**, 111, 1932.
- 4) *J. Grossfeld*, Z. U. L., **53**, 467, 1927.
- 5) *J. Schwaibold*, Pharm. Zentralhalle, **73**, 513, 1932.
- 6) *M. K. Zacherl* u. *H. G. Krainick*, Mikrochemie, **11**, 61, 1932.
- 7) *F. J. Hahn* u. *R. Klockmann*, Ztschr. angew. Chem., **43**, 993, 1930.
- 8) *M. E. Pestow*, Ztschr. analyt. Chem., **89**, 9, 1932.
- 9) *F. J. Hahn*, Ztschr. analyt. Chem., **90**, 330, 1932.
- 10) *V. Rothmund* u. *A. Burgstaller*, Ztschr. f. anorg. Chem., **63**, 330, 1909.