

Zur Untersuchung und Beurteilung diätetischer Nährmittel. 3. Mitteilung, Trennung der Zuckerarten mittels biochemischer Methoden

Autor(en): **Hadorn, H.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **42 (1951)**

Heft 1

PDF erstellt am: **13.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982442>

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.

Zur Untersuchung und Beurteilung diätetischer Nährmittel

3. Mitteilung

Trennung der Zuckerarten mittels biochemischer Methoden

H. Hadorn

(Laboratorium V.S.K., Basel)

In früheren Arbeiten ^{1) 2)} wurde unter anderem ein Analysengang zur Untersuchung von Nährmitteln angegeben. Während schon damals die meisten Bestandteile mit ausreichender Genauigkeit bestimmt oder berechnet werden konnten, gelang es nicht, die einzelnen Zuckerarten, besonders die Lactose und die Maltose, zu ermitteln. Bekanntlich ist die Bestimmung dieser beiden Zuckerarten in Gemischen neben Glucose, Fructose, Saccharose und Dextrin mit rein chemischen Methoden nicht möglich. Die Kenntnis des Lactose- und Maltosegehaltes von Nährmitteln ist jedoch wertvoll weil daraus in einfacher Weise die Anteile an fettfreier Milchtrockensubstanz und an Malzextrakt berechnet werden können.

Van Voorst ³⁾ hat vor einigen Jahren neue biochemische Methoden entwickelt, welche die Bestimmung von Lactose und Maltose in komplizierteren Zuckergemischen gestatten. Die Methoden, welche auf der selektiven Vergärung einzelner Zuckerarten beruhen, wurden von *van Voorst* angewendet zur Untersuchung von Stärkezucker und Malzextrakt ⁴⁾, Schokoladepasten ⁵⁾, Dextrinen ⁶⁾, Milchpulver ⁷⁾, Bier ⁸⁾, Kunsthonig ⁹⁾ und anderen Lebensmitteln. *Van de Kamer* und *Jansen* ¹⁰⁾ haben diese Arbeitsweise bei der Analyse von Brot mit gutem Erfolg angewendet.

Als wir vor ungefähr einem Jahr diese biochemischen Methoden auf unsere Nährmitteluntersuchungen zu übertragen versuchten, wurden stets schwankende und wenig zuverlässige Resultate gefunden. Es hat sich unterdessen herausgestellt, dass die damals verwendeten Hefestämme für diese Gärungsversuche nicht sehr geeignet waren. Vermutlich sind uns beim Sterilisieren und Impfen der Lösungen auch einige methodische Fehler unterlaufen, welche zu Infektionen und Fehlgärungen führten. Die Wiederholung der Versuche mit Reinkulturen der vorgeschriebenen Stämme, welche aus Holland *) bezogen wurden, ergab dann richtige und gut reproduzierbare Werte.

Die Methode von *van Voorst* ist inzwischen auch in Holland durch *A. Mosse* ¹¹⁾ experimentell überprüft und als einwandfrei befunden worden.

*) Herrn Dr. *J. H. van de Kamer*, Central Institut for Nutrition Research T.N.O. Utrecht sei an dieser Stelle bestens gedankt für die Vermittlung der Reinkulturen von *Saccharomyces cerevisiae* und *Candida pseudotropicalis*, sowie für verschiedene Ratschläge und Hinweise methodischer Art.

In der vorliegenden Arbeit werden die biochemischen Methoden zunächst an einigen Modellversuchen mit Zuckermischungen bekannter Zusammensetzung überprüft, wobei ebenfalls die Zuverlässigkeit der neuen Methodik bestätigt wird. Anschliessend folgt die Anwendung derselben auf selbst zubereitete Nahrungsmittelmischungen und auf einige Handelspräparate.

Da derartige, für den Lebensmittelchemiker nicht alltägliche Untersuchungen unseres Wissens in der Schweiz bisher nicht durchgeführt worden sind, sollen die von den holländischen Chemikern übernommenen Arbeitsvorschriften im Abschnitt «Methodik» ausführlich beschrieben werden.

Theoretisches

Für die Gärversuche verwendet man 2 Hefestämme, welche Lactose und Maltose selektiv vergären. Die im folgenden benützten Abkürzungen und Formeln habe ich von *van Uoorst* übernommen.

1. *Saccharomyces cerevisiae* (sc)

Sie vergärt *Maltose* (M), Glucose (G), Fructose (F), Saccharose (S)
 nicht vergoren werden *Lactose* (L), reduzierende Dextrine (O) und nicht
 reduzierende Dextrine (D).

2. *Candida pseudotropicalis* (cp), auch *Torula cremoris* genannt

Sie vergärt *Lactose* (L), Glucose (G), Fructose (F), Saccharose (S)
 nicht vergoren werden *Maltose* (M), reduzierende und nicht reduzierende
 Dextrine (O + D).

Zur Bestimmung von Lactose und Maltose in Zuckermischungen, welche neben Mono- und Disacchariden auch Dextrine enthalten, was bei zahlreichen Lebensmitteln der Fall ist, müssen 3 verschiedene Gärversuche nebeneinander angesetzt werden. Nach beendeter Gärung (48 Stunden) wird in einem aliquoten Teil das Reduktionsvermögen der unvergorenen Zuckerarten bestimmt.

1. Für die *Lactose*-Bestimmung wird vergoren mit *Saccharomyces cerevisiae*. Das Reduktionsvermögen des unvergorenen Rückstandes (R_I^{sc}) entspricht der Summe der Reduktionswerte der Lactose (L) und der reduzierenden Dextrine (O).

$$R_I^{sc} = L + O$$

2. Für die *Maltose*-Bestimmung wird vergoren mit *Candida pseudotropicalis*. Das Reduktionsvermögen des unvergorenen Rückstandes (R_I^{cp}) entspricht der Summe der Reduktionswerte der Maltose (M) und der reduzierenden Dextrine (O).

$$R_I^{cp} = M + O$$

3. Für die *Dextrin*-Bestimmung wird mit beiden Hefen vergoren. Der unvergorene Rückstand enthält nur noch die Dextrine. Dessen Reduktionsvermögen (R_I^{sccp}) entspricht den reduzierenden Dextrinen (O).

$$R_I^{\text{sccp}} = O$$

Lactose und Maltose lassen sich dann nach folgenden einfachen Formeln berechnen:

$$L = R_I^{\text{sc}} - R_I^{\text{sccp}} \quad (\text{Reduktionswerte als Lactose berechnet})$$

$$M = R_I^{\text{cp}} - R_I^{\text{sccp}} \quad (\text{Reduktionswerte als Maltose berechnet})$$

Die reduzierenden Dextrine ergeben sich direkt aus dem Reduktionsvermögen des Unvergärbaren von Versuch 3. *Van Uoorst* berechnet sie als Glucose.

Zur Bestimmung der Gesamt-Dextrine wird ein aliquoter Teil der Lösung des Versuches 3 (vergoren mit beiden Hefen), welche nur noch reduzierende und nicht reduzierende Dextrine enthält, der starken Hydrolyse mit HCl unterworfen. Man bestimmt das Reduktionsvermögen (R_3^{sccp}), welches der gebildeten Glucose entspricht, und rechnet sie in Dextrin um.

$$R_3^{\text{sccp}} = O + D \quad (\text{berechnet als Glucose})$$

$$\text{Gesamtdextrin} = 0.9 \cdot \text{Glucose}$$

Modellversuche mit Mischungen reiner Zuckerarten

Die verschiedenen Zuckerarten wurden in Form chemisch reiner Präparate in 200 cm³ Erlenmeyerkolben abgewogen, mit 25 cm³ Wasser und 10 cm³ Hefewasser versetzt, die Kolben mit Wattepfropfen verschlossen und durch Einkochen auf 5—10 cm³ sterilisiert. Sofort nach dem Erkalten wurde geimpft und während 48 Stunden bei 30° C vergoren. Die Bestimmung des unvergorenen Zuckers erfolgte in einem aliquoten Teil (10 cm³ = 1/10 der Einwaage) der nach *Carrez* geklärten und auf 100 cm³ verdünnten Lösung nach der Methode von *Hadorn* und *von Fellenberg* ¹²⁾

Aus den in Tabelle 1 zusammengestellten Resultaten ist ersichtlich, dass nach der beschriebenen Methode Lactose und Maltose in den verschiedenartigsten Zuckermischungen mit einer absoluten Genauigkeit von $\pm 4\%$ bestimmt werden können. Damit werden die Angaben von *van Uoorst* (loc. cit) und von *Mossel* ¹¹⁾ bestätigt.

Modellversuche mit Malzextrakt und Magermilchpulver

Etwas komplizierter gestaltet sich die Arbeitsweise, wenn Maltose oder Lactose in einem Präparat bestimmt werden sollen, welches neben Zucker auch Fett, Eiweiss, Rohfaser und Mineralstoffe enthält. In Anlehnung an die Versuche von

Tabelle 1
Modellversuche mit Mischungen reiner Zuckerarten

Nr.	Zuckermischung im Gärkölbchen	Geimpft mit	Gefunden Maltose- hydrat mg	Gefunden Lactose- hydrat mg	Absoluter Fehler in ‰
1	Lactosehydrat = 200 mg Maltosehydrat = 201,0 mg	Cand. ps.	199,0	—	— 1,0
2	Lactosehydrat = 100 mg Maltosehydrat = 104,8 mg Saccharose = 200 mg	Cand. ps.	100,2	—	— 4,4
3	Lactosehydrat = 100 mg Maltosehydrat = 105,2 mg Saccharose = 210 mg	Cand. ps.	100,8	—	— 4,2
4	Glucose = 100 mg Lactosehydrat = 100 mg Maltosehydrat = 100 mg Saccharose = 200 mg	Cand. ps.	101,8	—	+ 1,8
5	Lactosehydrat = 201,8 mg Maltosehydrat = 208 mg	Sacch. cer.	—	202,0	+ 0,1
6	Lactosehydrat = 0 mg Maltosehydrat = 200 mg Saccharose = 200 mg	Sacch. cer.	—	2,3	+ 1,2
7	Lactosehydrat = 101,7 mg Saccharose = 304,7 mg	Sacch. cer.	—	100,2	— 1,5
8	Lactosehydrat = 121,0 mg Invertzucker = 316 mg	Sacch. cer.	—	120,6	— 0,3
9	Glucose = 100 mg Lactosehydrat = 102,4 mg Maltosehydrat = 100 mg Saccharose = 100 mg	Sacch. cer.	—	103,8	+ 1,4

Tabelle 2

Modellversuche mit Malzextrakt und Milchpulver

M = Maltose wasserfrei L = Lactose wasserfrei O = reduzierende Dextrine D = nicht reduzierende Dextrine

Nr.	Mischung im Gärkölbchen	Vergoren mit	Der unvergorene Rückstand enthält	Reduktionswert: Verbrauch an 0,02n Jod für $\frac{1}{10}$ der Einwaage cm ³	Gefunden	Berechnet	Absoluter Fehler in %
1	Malzextrakt = 400 mg	Cand. ps.	M+O+D	M+O+D = 20,62	—	—	—
2	Malzextrakt = 400 mg	Sacch. cer.	O+D	O+D = 2,14 M = 18,48	Maltose = 52,7 %	—	—
3	Malzextrakt = 400 mg Lactosehydrat = 51,0 mg	Sacch. cer.	L+O+D	L+O+D = 7,33 O+D = 2,14 L = 5,19	Lactose = 48,6 mg	48,5 mg	+ 0,2 %
4	Malzextrakt = 400 mg Lactosehydrat = 50 mg	Cand. ps.	L+O+D	M+O+D = 20,76 O+D = 2,14 M = 18,62	Maltose = 53,1 %	52,7 %	+ 0,8 %
5	Magermilchp.* = 400 mg	Sacch. cer.	L	L = 20,24	Lactose = 47,4 %	—	—
6	Malzextrakt = 200 mg Magermilchp. = 200 mg	Cand. ps.	M+O+D	M+O+D = 10,32 O+D = 1,07 M = 9,25	Maltose = 26,4 %	26,35 %	+ 0,2 %
7	Malzextrakt = 200 mg Magermilchp. = 200 mg	Sacch. cer.	L+O+D	L+O+D = 11,29 O+D = 1,07 L = 10,22	Lactose = 23,9 %	23,7 %	+ 0,8 %
8	Malzextrakt = 400 mg Lactosehydrat = 100,8 mg	Sacch. cer.	L+O+D	L+O+D = 12,60 O+D = 2,14 L = 10,46	Lactose = 98,0 mg	95,8 mg	+ 2,2 %

* Der Lactosegehalt des Magermilchpulvers, nach der Lebensmittelbuch-Methode bestimmt, ergab in guter Übereinstimmung 47,0%.

van de Kamer und *Jansen*¹⁰⁾, welche die verschiedenen Zuckerarten in Brot bestimmt haben, wurde zuerst ein wässriger Auszug hergestellt und dieser mit *Carrez*-Lösung geklärt. Im Filtrat wurde das überschüssige Zink, welches die Hefe im Wachstum hemmen würde, mit Na_2HPO_4 ausgefällt.

Bei den Modellversuchen in Tabelle 2, welche mit einem Trockenmalzextrakt, einem Magermilchpulver und mit chemisch reiner Lactose durchgeführt worden sind, ist genau nach der am Schluss der Arbeit angegebenen Methodik verfahren worden. Bei allen Versuchen, in welchen Malzextrakt zugegen war, muss am gefundenen Reduktionswert (nach der Vergärung) eine Korrektur für das unvergärbare reduzierende Dextrin (O) angebracht werden. Diese Korrektur wurde im Versuch 2 ermittelt.

Die zur Berechnung der Resultate nötigen Angaben (cm^3 0,02n-Jod-Verbrauch) sind in Tabelle 2 ebenfalls angegeben. Die gefundenen Werte für Maltose bzw. Lactose stimmen sehr gut mit den berechneten überein. Die Abweichungen betragen in der Regel weniger als 1 %. Damit dürfte bewiesen sein, dass die biochemische Methode von *van Voorst* zur Bestimmung von Lactose und Maltose auch bei kompliziert zusammengesetzten Lebensmitteln anwendbar ist und zuverlässige, gut reproduzierbare Resultate liefert. Zur Kontrolle der Dextrinbestimmung wurden 51,5 mg Handelsdextrin (Dextrinum album, Trockensubstanzgehalt = 91,2 %) vorschriftsgemäss im 100 cm^3 Messkolben mit 3 %iger HCl während $1\frac{1}{2}$ Stunden im Wasserbad erhitzt. Nach dem Abkühlen und Neutralisieren bestimmte man in 20 cm^3 das Reduktionsvermögen

gefunden:	10,16 mg Glucose = 9,15 mg Dextrin
berechnet	= 9,40 mg Dextrin

Die Übereinstimmung ist befriedigend, der theoretische Faktor $0,9 \cdot$ Glucose kann zur Berechnung verwendet werden.

Untersuchung von Nahrungsmitteln

Die Methode wurde nun zur Untersuchung einer selbst hergestellten Nahrungsmittelmischung bekannter Zusammensetzung und 5 verschiedener Präparate des Handels herangezogen.

Die eigene Nahrungsmittelmischung war folgendermassen zusammengesetzt:

42,5 % Trockenmalzextrakt	{	enthaltend:	52,1 % Maltose (wasserfrei)
			18,3 % Gesamtdextrin
			3,5 % reduzierende Dextrine
17,5 % Magermilchpulver	{	enthaltend:	47,4 % Lactose (wasserfrei)
			7,3 % Feuchtigkeit
15,0 % Kakao solubilisiert	{	enthaltend:	3,1 % Gesamtdextrin
25,0 % Rohrzucker.			

Tabelle 3
Analyse von diätetischen Nahrungsmitteln

		1	2	3	4	5
Gesamt-Protein (6,25 x N)	%	14,9	13,8	8,8	12,4	11,6
Roh-Casein	%	6,22	6,29	3,53	5,72	5,18
Rein-Casein	%	5,07	5,20	3,15	4,79	4,00
Lösliche Kohlehydrate	%	72,0	69,5	80,6	71,8	76,4
Saccharose	%	2,7	2,1	23,1	17,7	18,5
Maltose wasserfrei	%	32,2	30,4	24,7	21,7	19,4
Lactose wasserfrei	%	8,0	7,9	4,9	7,0	6,7
Reduzierende Dextrine, ber. als Glucose	%	3,7	3,3	3,9	2,7	4,9
Gesamt-Dextrin	%	16,1	16,8	16,7	13,7	20,1
Gesamtfett	%	7,42	7,31	5,25	6,67	5,12
Refraktionszahl des Fettes bei 40° C		47,9	47,6	46,7	48,2	49,1
Halbmikrobuttersäurezahl		7,20	8,89	8,82	7,77	8,96
Milchfett im Gesamtfett	%	36,0	44,5	44,1	38,9	44,8
Milchfett im Präparat	%	2,6	3,3	2,3	2,6	2,3
Eierfett (0,4 x Trockenvollei)	% ca.	1,4	1,4	0,4	1,2	1,5
Kakaofett (Differenz)	% ca.	3,4	2,6	2,6	2,9	1,3
Vollmilchpulver (Milchfett x 4)	%	10,5	13,0	9,3	10,4	9,2
Magermilchpulver	%	7,9	6,2	2,8	6,6	6,0
Theobromin	%	0,330	0,402	0,287	0,360	0,232
Fettfreie Kakaomasse	%	10,3	12,6	9,0	11,3	7,3
Lecithin-P ₂ O ₅	mg%	55,0	53,0	24,8	47,0	50,2
Cholesterin	mg%	97,2	93,4	38,6	81,4	93,4
Vollei ber. aus Lec. P ₂ O ₅	%	3,64	3,33	1,31	2,93	3,48
Vollei ber. aus Cholesterin	%	3,61	3,48	1,02	2,95	3,93
Fettfreie Milchtrockensubstanz ber. aus Rein-Casein	%	15,6	16,0	9,7	14,7	12,3
ber. aus Lactose (2 x Lact.)	%	16,0	15,8	9,8	14,0	13,4
Malzextrakt ber. aus Maltose (2 x Malt.)	%	64,4	60,8	49,4	43,4	38,8
ber. aus Differenz	%	61,6	60,2	52,0	48,2	54,0
Diastatische Kraft <i>Lintner</i> -Einh.		66	24	4	9	38
<i>Ungefähre Zusammensetzung:</i>						
Vollmilchpulver (25 % Milchfett)	%	10,5	13,0	9,3	10,4	9,2
Magermilchpulver	%	7,9	6,2	2,8	6,6	6,0
Kakao (fettfreie Kakaomasse + Kakaofett)	%	13,7	15,2	11,6	14,2	8,6
Rohrzucker	%	2,7	2,1	23,1	17,7	18,5
Malzextrakt	%	61,6	60,2	52,0	48,2	38,8
Stärkezucker	%	0	0	0	0	15,2
Gehalt an Trockenvollei	%	3,6	3,4	1,2	2,9	3,7

Die Analyse ergab folgende Werte:

	1. Analyse	2. Analyse	berechnet
Lactose wasserfrei	8,5 0/0	8,2 0/0	8,3 0/0
Maltose wasserfrei	21,3 0/0	22,1 0/0	22,1 0/0
Gesamtdextrine	12,6 0/0	13,6 0/0	8,3 0/0
reduz. Dextrin, ber. als Glucose	2,8 0/0	2,4 0/0	1,5 0/0

Die gefundenen Lactose- und Maltosegehalte stimmen gut mit den berechneten Werten überein. Für die Dextrine fallen die Werte zu hoch aus.

Von den 5 untersuchten Handelspräparaten in Tabelle 3 wurden zunächst nach den früher publizierten Vorschriften¹⁾ möglichst vollständige Analysen gemacht und daraus die Menge der verarbeiteten Rohmaterialien berechnet.

Neu in den Analysengang einbezogen sind die Bestimmungen der Lactose, Maltose, der reduzierenden Dextrine und des Gesamtdextrins. Die Werte sind gut reproduzierbar, wie nachstehende Analysen des Präparates Nr. 1 zeigen, welche unabhängig voneinander mit verschiedenen Einwaagen ausgeführt wurden.

Nährmittel Nr. 1

	1. Analyse vom 28. 10. 50	2. Analyse vom 4. 11. 50
Lactose, wasserfrei	8,0 0/0	8,0 0/0
Maltose, wasserfrei	32,2 0/0	32,1 0/0
Reduzierende Dextrine (berechnet als Glucose)	3,7 0/0	3,7 0/0
Gesamtdextrin	15,8 0/0	16,4 0/0

Aus dem Gehalt an Milchzucker lässt sich in einfacher Weise die fettfreie Milchtrockensubstanz berechnen. Nach Literaturangaben, welche durch eigene Versuche*) bestätigt wurden, macht die Lactose im Mittel 50 0/0 der fettfreien Milchtrockensubstanz aus.

Der Gehalt an *fettfreier Milchtrockensubstanz* des Präparates ergibt sich somit durch Multiplikation des Lactosegehaltes mit 2.

Wie aus Tabelle 3 hervorgeht, stimmen die aus dem Rein-Casein berechneten Werte für die fettfreie Trockensubstanz gut mit den aus der Lactose berechneten überein. Die Abweichungen betragen 0,1—1,1 0/0, was durch die natürlichen Schwankungen in der Milchezusammensetzung erklärt werden kann.

*) In 2 Milchpulverpräparaten wurden nach der Lebensmittelbuch-Methode nachstehende Zahlen ermittelt:

	Magermilchpulver	Vollmilchpulver
Wasser	7,3 0/0	5,1 0/0
Fett	0,06 0/0	24,8 0/0
Lactose (wasserfrei)	47,0 0/0	34,5 0/0
Lactose ber. auf fettfreie Trockensubstanz	50,7 0/0	49,2 0/0

Aus dem Maltosegehalt lässt sich die Menge des im Nahrungsmittel vorhandenen Malzextraktes berechnen. Konzentrierte Malzextrakte, wie sie für die Nahrungsmittelfabrikation verwendet werden, enthalten nach eigenen Untersuchungen¹³⁾ zirka 50 % Maltose in der Trockensubstanz. Durch Multiplikation des Maltosegehaltes mit 2 erhält man annähernd den Malzextraktgehalt des Präparates.

In der Tabelle 3 stimmen bei den Präparaten Nr. 1—4 die aus der Maltose berechneten Malzextraktgehalte befriedigend mit den aus der Differenz ermittelten Werten «Malzextrakt und andere Zuckerarten» überein. Unterschiede bis zu 5 % sind bedeutungslos, da der Maltosegehalt verschiedener Malzextrakte schwankt und zudem in den meisten Malzextrakten etwas Saccharose (bis 5 %) enthalten ist. Zu den Präparaten Nr. 1 und 2 ist bestimmt kein Rohrzucker mitverarbeitet worden. Die gefundenen 2,7 bzw. 2,1 % Saccharose stammen aus dem Malzextrakt und sollten in der Bilanz als Malzextrakt berechnet werden. Beim Präparat Nr. 5 besteht aber ein beträchtlicher Unterschied zwischen dem aus der Maltose berechneten Malzextraktgehalt und dem aus der Differenz erhaltenen Wert. Dieser Unterschied von zirka 15 % rührt daher, weil in diesem Präparat ein Teil des Malzextraktes durch Stärkezucker ersetzt worden ist. Diese Feststellung wird noch durch den Umstand bestärkt, dass das Präparat relativ viel Dextrine enthält. Malzextrakte enthalten im Mittel 25 % Gesamtdextrin berechnet auf Trockensubstanz. Den im Präparat Nr. 5 enthaltenen 38,8 % Malzextrakt würden somit ungefähr 10 % Gesamtdextrin entsprechen. Gefunden wurden aber 20,1 %, was auf die Mitverarbeitung von dextrinreichem Stärkezuckersirup hindeutet.

Beurteilung der Handels-Präparate

Die 5 untersuchten Muster sind bekannte Handelsprodukte, welche im Oktober 1950 in Detailgeschäften in Basel gekauft wurden. Nr. 1—4 entsprechen den gleichen Präparaten, welche wir schon früher (vor zirka 1 1/2 Jahren) analysierten und deren Zusammensetzung in Tabelle 18 unserer ersten Arbeit¹⁾ bekanntgegeben worden sind. Nr. 5 entspricht dem Präparat Nr. 7 in der Tabelle 18.

Nach den früher vorgeschlagenen Beurteilungsnormen sind die beiden ungezuckerten Nahrungsmittel Nr. 1 und 2 als zweckmässig und gut zusammengesetzt zu bezeichnen. Von den gezuckerten Präparaten Nr. 3—5 ist Nr. 3 minderwertiger als die beiden andern, da es am wenigsten Milchbestandteile und vor allem eine ungenügende Menge Trockenvollei enthält.

Während die Präparate Nr. 1 und 3 ungefähr die gleiche Zusammensetzung aufweisen, wie bei den früheren Analysen, sind die übrigen Produkte seither verbessert worden. Bei Nr. 2 und 4 ist der Eigehalt, bei Nr. 5 der Milchpulvergehalt erhöht worden.

Die diastatische Wirkung der 5 Präparate ist sehr verschieden. Nr. 1, 2 und 5 besitzen normale bis hohe, Nr. 3 und 4 dagegen zu geringe diastatische Kraft.

Methodik

Prinzip

Aliquote Teile des mit *Carrez*-Lösung gereinigten wässrigen Nahrungsmittel-auszuges werden mit einer Nährlösung (Hefe-Autolysat) versetzt und hierauf sterilisiert. Dann impft man mit speziellen Heferasen, welche Lactose und Maltose selektiv vergären. Die nach Vergärung zurückbleibenden Zuckerarten werden nach bekannten chemischen Methoden bestimmt.

Man verwendet zu den Versuchen Reinkulturen von *Saccharomyces cerevisiae* und *Candida pseudotropicalis*.

Züchtung der Hefekulturen

Herr Dr. Ritter, Landwirtschaftliche Versuchsanstalt Liebefeld-Bern, hat sich in freundlicher Weise bereit erklärt, die beiden Stämme weiter zu züchten und sie jederzeit an Interessenten abzugeben.

Die beiden Hefestämme werden auf Malzextrakt-Agar Nährboden gezüchtet. Nach *Mossel*¹¹⁾ werden 45 g Malzagar-Pulver (Bacto Malt Agar dehydrated; Hersteller: Difco Laboratories Inc. Detroit USA) auf 1 Liter Wasser gelöst. Ebenso gut geeignet ist folgender Nährboden (nach Angaben von Herrn Dr. *van de Kamer*):

Man löst 15 g Agar-Agar
und 30 g Malzextrakt

in 1 Liter Wasser unter Erwärmen auf dem Wasserbad und filtriert. Je 3—4 cm³ dieser Lösung werden in Kultur-Röhrchen (16 x 160 mm) verteilt, diese mit Wattepfropfen verschlossen und 15 Minuten im Autoklaven bei 120° sterilisiert. Gewisse Agarsorten halten diese hohe Erhitzung nicht aus, man sterilisiert daher besser während 20 Minuten in strömenden Dampf und wiederholt diese Operation am 3. Tage. Die Röhrchen lässt man in schräger Lage erkalten. Das Überimpfen der Kulturen geschieht in üblicher Weise mit Hilfe einer Platinöse. Die Röhrchen sollen während 24 Stunden bei 30° bebrütet und dann in der Kälte aufbewahrt werden. Falls man die Kulturen im Eisschrank aufbewahrt, genügt es, dieselben alle 4 Wochen zu überimpfen. Über die Prüfung der Kulturen auf Reinheit hat *Mossel* (loc. cit.) kürzlich in dieser Zeitschrift ausführlich berichtet.

Hefeautolysat («Hefewasser»)

Mossel empfiehlt eine Lösung, hergestellt aus 50 g Hefeautolysat-Pulver (Bactoyest Extract, dehydrated; Difco) pro Liter Wasser. Nach Angaben von Herrn Dr. *van de Kamer* kann das Hefeautolysat in einfacher Weise nach folgendem Rezept, das sich auch in unserem Laboratorium gut bewährt hat, hergestellt werden.

100 g Presshefe werden mit ca. 350 cm³ Wasser während ca. 5 Minuten unter ständigem Rühren gekocht. Man lässt die Hefe absitzen und giesst die überstehende Lösung vorsichtig in ein 1-Liter-Becherglas. Die Hefe wird noch 2 mal mit je 70 cm³ Wasser aufgewirbelt und nach dem Absitzen (oder Auszentrifugieren) abgegossen.

Die 3 vereinigten Flüssigkeiten, welche nicht vollständig klar sein müssen, versetzt man mit einer kalt bereiteten Lösung von 1,7 g Eiweiss (Albumen ovi) in ca. 30 cm³ Wasser. Nun wird einige Minuten vorsichtig gekocht (starkes Schäumen) und heiss durch ein Faltenfilter filtriert. Das Filtrat verdünnt man auf 1 Liter, verteilt es in Kölbchen von 50 und 100 cm³, verschliesst sie mit einem Wattebausch und sterilisiert durch Aufkochen an 2 aufeinander folgenden Tagen.

Arbeitsvorschrift

2 g des Nährmittels werden in einem 100 cm³ Messkolben mit zirka 80 cm³ heissem Wasser übergossen, das Kölbchen umgeschwenkt, bis sich die Masse gleichmässig verteilt hat. Man kühlt ab und setzt unter jeweiligem Mischen je 1 cm³ Carrez-Lösung I und II zu. Bei Normaltemperatur füllt man bis zur Marke auf und filtriert durch ein trockenes Faltenfilter. Die ersten 5 cm³ des Filtrates werden verworfen. Um den Zinküberschuss zu entfernen, versetzt man das Filtrat mit 0,3—0,4 g krist. Na₂HPO₄ · 12 H₂O, schwenkt gut um, worauf das Zinkphosphat ausfällt. Man filtriert erneut durch ein trockenes Faltenfilter. Je 20 cm³ dieser Stammlösung (400 mg Substanz) werden zu den Gärversuchen verwendet.

In 3 gut gereinigte, frisch ausgedämpfte Erlenmeyerkolben von 200 cm³ Inhalt pipettiert man je 20 cm³ der Stammlösung und 10 cm³ Hefewasser. Man gibt einige Krönchen Bimsstein und als Schaumbekämpfungsmittel eine Spur Stearinsäure zu, verschliesst die Kolben mit einem passenden Wattepfropfen und sterilisiert sie, indem man die Lösung auf einem Sandbad vorsichtig auf 5—10 cm³ einkocht. Sofort nach dem Erkalten werden die 3 sterilisierten Erlenmeyerkölbchen mit je einer Öse voll wachsender, während 24—48 Stunden bei 30° gezüchteter Hefereinkultur wie folgt geimpft:

1. Für Lactose-Bestimmung
mit Sacch. cerevisiae $R_I^{sc} = L+O+D$ (1)
2. Für Maltose-Bestimmung
mit Cand. pseudotropicalis $R_I^{cp} = M+O+D$ (2)
3. Für Dextrin-Bestimmung
mit Sacch. cerevisiae
+ Cand. pseudotropicalis $R_I^{scp} = O+D$ (3)

Nachdem man die Hefe an der innern Kolbenwand abgestreift hat, wird die Öffnung des Kolbens abgeflammt und sofort wieder verschlossen. Durch vorsichtiges Umschwenken verteilt man die Hefe in der Flüssigkeit und bebrütet die Kolben während 48 Stunden bei 30°.

Nach beendeter Gärung werden die Kolben zwecks Abtötung der Hefen kurz aufgekocht und der Inhalt in 100 cm³ Messkölbchen gespült. Man klärt mit je 0,5 cm³ Carrez-Lösung, filtriert durch ein trockenes Faltenfilter und verwendet aliquote Teile der Filtrate zu den Zuckerbestimmungen, welche zweckmässig

nach einer Halbmikromethode, entweder nach *Hadorn* und *von Fellenberg* ¹²⁾ oder nach *van de Kamer* ¹⁵⁾ erfolgt.

Zuckerbestimmung nach Hadorn und von Fellenberg ¹²⁾.

In grosse Reagensgläser (20 x 160 mm) pipettiert man je 10 cm³ des zuckerhaltigen Filtrates (= 40 mg Einwaage), versetzt mit 10 cm³ Wasser und 3 cm³ frisch bereiteter *Fehling'scher* Mischung.

Nun wird vorschriftsgemäss während 5 Minuten in einem kräftig siedenden Wasserbad erhitzt, dann abgekühlt, der Cu₂O-Niederschlag abzentrifugiert und jodometrisch nach *von Fellenberg* bestimmt.

$$\begin{aligned} 1 \text{ cm}^3 \text{ 0,02 n-Jod} &= 1,140 \text{ mg Maltose wasserfrei} \\ &= 0,937 \text{ mg Lactose wasserfrei.} \end{aligned}$$

Van Uoorst führt die Zuckerbestimmungen mittels der Makromethode nach *Luff-Schoorl* ¹⁴⁾ aus.

Van de Kamer sowie *Mossel* benützten die Halbmikromethode nach *van de Kamer* ¹⁵⁾.

Nach *van de Kamer* und *Mossel* muss in einem Blindversuch das Reduktionsvermögen des Hefeautolysates bestimmt und bei allen Versuchen in Abzug gebracht werden. Das von uns verwendete, selbst zubereitete «Hefewasser» zeigte nach der Klärung mit *Carrez-Lösung* keine Reduktionswirkung gegenüber *Fehling'scher* Lösung.

Bestimmung des Gesamtdextrins

25 cm³ des Filtrates aus dem Gärversuch Nr. 3, welches nur noch die reduzierenden und nicht reduzierenden Dextrine enthält, werden in einem 50 cm³ Messkölbchen mit 3,0 cm³ 25 %iger Salzsäure versetzt und während 1½ Stunden in einem siedenden Wasserbad erhitzt. Man kühlt ab und neutralisiert mit 4n-NaOH (zirka 6 cm³) unter Verwendung von Methylorange als Indikator, füllt zur Marke auf und bestimmt in 20 cm³ Lösung (40 mg Einwaage) die durch Hydrolyse entstandene Glucose nach *Hadorn* und *von Fellenberg*.

$$1 \text{ cm}^3 \text{ 0,02 n Jod} = 0,687 \text{ mg Glucose}$$

Da bei der vollständigen Hydrolyse aus 90 Teilen Dextrin 100 Teile Glucose entstehen, gilt:

$$\begin{aligned} \text{Gesamt-Dextrin} &= 0,9 \cdot \text{Glucose} \\ 1 \text{ cm}^3 \text{ 0,02 n Jod} &= 0,618 \text{ mg Dextrin} \end{aligned}$$

Berechnung

Zur Berechnung der Lactose und Maltose muss von den bei den Versuchen 1 und 2 gefundenen Reduktionswerten (R_I^{sc} bzw. R_I^{cp}) der Reduktionswert der Dextrine (Versuch 3 R_I^{sccp}) abgezogen werden. Die Differenz entspricht der Reinlactose bzw. der Reinmaltose.

Beispiel (Nährmittel Nr. 1)

In je 10 cm³ der geklärten Lösungen der 3 Gärversuche (= 40 mg Substanz) wurde das Reduktionsvermögen nach *Hadorn* und *von Fellenberg* bestimmt. Der Jodverbrauch betrug:

$$\text{Versuch (1) } R_I^{\text{sc}} = L + O = 5,60 \text{ cm}^3 \text{ 0,02 n-Jod}$$

$$\text{Versuch (2) } R_I^{\text{cp}} = M + O = 13,40 \text{ cm}^3 \text{ 0,02 n-Jod}$$

$$\text{Versuch (3) } R_I^{\text{sccp}} = O = 2,17 \text{ cm}^3 \text{ 0,02 n-Jod}$$

Lactose

$$\text{Versuch (1) } L + O = 5,60 \text{ cm}^3 \quad (1 \text{ cm}^3 \text{ 0,02 n-J} = 0,937 \text{ mg L})$$

$$\text{Versuch (3) } O = -2,17 \text{ cm}^3$$

$$L = 3,43 \text{ cm}^3$$

$$\text{in 40 mg Substanz} = 3,43 \cdot 0,937 = 3,21 \text{ mg Lactose}$$

$$\text{Lactosegehalt} = \frac{3,43 \cdot 0,937 \cdot 100}{40} = 8,0 \%$$

Maltose

$$\text{Versuch (2) } M + O = 13,40 \text{ cm}^3 \quad (1 \text{ cm}^3 \text{ 0,02 n-J} = 1,14 \text{ mg M})$$

$$\text{Versuch (3) } O = -2,17 \text{ cm}^3$$

$$M = 11,23 \text{ cm}^3$$

$$\text{in 40 mg Substanz} = 11,23 \cdot 1,140 = 12,8 \text{ mg Maltose}$$

$$\text{Maltosegehalt} = \frac{11,23 \cdot 1,140}{0,4} = 32,1 \%$$

Reduzierende Dextrine

$$\text{Versuch (3) } O = 2,17 \text{ cm}^3 \text{ 0,02 n-J} \quad (1 \text{ cm}^3 \text{ 0,02 n-J} = 0,687 \text{ mg G})$$

direkt reduzierende Dextrine berechnet als Glucose

$$= \frac{2,17 \cdot 0,687 \cdot 100}{40} = 3,7 \%$$

Gesamtdextrin

Das Reduktionsvermögen nach der starken Hydrolyse von 20 cm³ Lösung (= 40 mg Substanz) betrug:

$$R_3^{\text{sccp}} = 10,65 \text{ cm}^3 \text{ 0,02 n-J} \quad (1 \text{ cm}^3 \text{ 0,02 n-J} = 0,618 \text{ mg Dextrin})$$

$$\text{Gesamt-Dextrin} = \frac{10,65 \cdot 0,618 \cdot 100}{40} = 16,4 \%$$

Zusammenfassung

1. Die von *van Voorst* vorgeschlagenen biochemischen Methoden zur Trennung der Zuckerarten mit selektiv vergärenden Heferasen werden an verschiedenen Modellversuchen überprüft. Lactose und Maltose lassen sich in beliebigen Zuckermischungen bestimmen.
2. Die Methoden wurden mit gutem Erfolg zur Untersuchung diätetischer Nahrungsmittel herangezogen. Aus dem Lactosegehalt kann mit hinreichender Genauigkeit die fettfreie Milchtrockensubstanz, aus dem Maltosegehalt die Menge des Malzextraktes berechnet werden.
3. Es werden vollständige Analysen von 5 verschiedenen diätetischen Nahrungsmitteln des Handels bekannt gegeben.

Résumé

1. Examen — sur divers mélanges préparés soi-même — des méthodes biochimiques proposées par *van Voorst* pour la séparation des diverses sortes de sucres au moyen d'espèces de levures à pouvoir fermentatif sélectif. Le lactose et le maltose peuvent être dosés de cette façon dans n'importe quels mélanges de sucres.
2. Ces méthodes ont été utilisées avec succès pour l'analyse de produits diététiques. On peut calculer avec une exactitude suffisante la substance sèche et dégraissée du lait, à partir de la teneur en lactose, et la quantité d'extrait de malt, à partir de la teneur en maltose.
3. On communique les analyses complètes de 5 produits diététiques divers du commerce.

Literatur

- 1) *H. Hadorn* und *R. Jungkunz*, Zur Untersuchung und Beurteilung diätetischer Nahrungsmittel, diese Mitt. **40**, 416 (1949).
- 2) *H. Hadorn*, *R. Jungkunz* und *K. W. Biefer*, diese Mitt. **42**, 14 (1951).
- 3) *F. Th. van Voorst*, «A reductometric and biochemical System for analysis of Sugar Mixtures». International Congress on analytical Chemistry at Utrecht (Netherlands) June 1—3 1948, Section V, vgl. *Anal. Chim. Acta* **2**, 813 (1948).
- 4) *F. Th. van Voorst*, Biochemische suikerbepalingen, *Chem. Weekblad* **35**, 338 (1938), ebenda **35**, 677 (1938), Zetmeelstrop, massé en moutextract, ebenda **36**, 253 (1939).
- 5) *F. Th. van Voorst*, Chocoladepastei, *Chem. Weekblad* **36**, 715 (1939).
- 6) *F. Th. van Voorst*, Dextrine *Chem. Weekblad* **37**, 180 (1940).
- 7) *F. Th. van Voorst*, Melkpoeder, *Chem. Weekblad* **36**, 699 (1939).
- 8) *F. Th. van Voorst*, Bier, *Chem. Weekblad* **37**, 506 (1940).
- 9) *F. Th. van Voorst*, Kunstthoningen, *Chem. Weekblad* **40**, 92 (1943).
- 10) *J. H. van de Kamer* und *N. F. Jansen*, *Chem. Weekblad* **42**, 184 (1946).
- 11) *D. A. A. Mossel*, diese Mitt. **42**, 18 (1951).
- 12) *H. Hadorn* und *Th. von Fellenberg*, diese Mitt. **36**, 359 (1945).
- 13) *H. Hadorn*, Biochemische Bestimmung der Rein-Maltose und der Dextrine in Malzextrakt (unveröffentlicht).
- 14) *N. Schoorl*, *Chem. Weekblad*, **26**, 130 (1929), *Z.U.L.* **57**, 566 (1929).
- 15) *J. H. van de Kamer*, Semi-Microsuikertitratie met behulp Reagens van *Luff-Schoorl*, *Chem. Weekblad* **39**, 585 (1942).