

Colorimetrische Bestimmung des Ammoniakstickstoffes im Käse

Autor(en): **Bernhard, E.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **45 (1954)**

Heft 2

PDF erstellt am: **12.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-984016>

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.

Zusammenfassung

Der Autor untersucht die Bedingungen, unter welchen Kochsalz beim Erhitzen am wenigsten flüchtig ist, und beschreibt in der Folge eine Methode zur Bestimmung der Asche in Brot. Gleichzeitig macht er Vorschläge zur Verbesserung und Vereinfachung früherer Bestimmungsmethoden.

Summary

Sodium chloride may be heated at 375° C without loss; if mixed with flour (acidic medium), losses occur which may be prevented by adding sodium carbonate (alkaline medium). A method for the determination of ash in bread, based on these findings, is described.

Littérature

- ¹ J. Terrier: Le dosage du sel dans le pain. M.L.H. 44, 403 (1953).
- ²) F. P. Treadwel: Analyse quantitative, 4e édition française, p. 658.
- ³) Handbuch der Lebensmittelchemie, tome V, p. 239 et 85.

Colorimetrische Bestimmung des Ammoniakstickstoffes im Käse

Von E. Bernhard

(Milchtechnisches Institut der ETH, Zürich)

In einigen Käsesorten kann der Anteil des Ammoniaks am Gesamtstickstoff eine beträchtliche Höhe erreichen. Im Appenzeller Rässkäse wurde sogar schon ein $\text{NH}_3\text{-N}$ -Gehalt von 10 % des Gesamtstickstoffes gemessen. Auch sehr reife Limburger Käschen haben annähernd gleich hohe Daten geliefert. Während im normalen Emmentaler Käse das Ammoniak kaum vorhanden sein sollte, kann es bei Fehlgärungen und altem, angeschnittenem Käse in messbaren Mengen vorkommen.

Bei der Charakterisierung der Käsereifung und des damit verbundenen Eiweissabbaues kommt auch der Ammoniakbestimmung eine gewisse Bedeutung zu.

In der praktischen Biochemie werden verschiedene Ammoniakbestimmungsmethoden benützt. Meistens stützen sie sich auf die basischen Eigenschaften des Ammoniaks, auf die Oxydierbarkeit von $\text{NH}_3\text{-}$ und $\text{NH}_4\text{-}$ Ion zu elementarem Stickstoff und auf die Eigentümlichkeit des Ammoniakstickstoffes, charakteristische Verbindungen mit Hg-Salzen zu bilden.

Ein einfaches Verfahren ist die Destillation mit Magnesia und nachfolgender Titration des ausgetriebenen Ammoniaks. Allerdings wissen wir nicht, ob es sich nur um im Käse vorhandenen Ammoniakstickstoff handelt, oder ob ein gewisser Anteil eventuell erst durch den Destillationsprozess zufolge rein chemischer Umsetzungen frei wird. Durch die Austreibung des Ammoniaks mit Magnesia werden zwar die organischen Stickstoffverbindungen (Eiweisskörper, Amino-

säuren und deren Derivate) weit weniger angegriffen als bei der Destillation mit Laugen, aber auch das MgO greift bei einer Temperatur von 45° C noch Amine an.

Eine weitere Methode, die auf dem Prinzip der Ammoniak austreibung aus dem Substrat beruht, ist diejenige nach *Folin*⁵⁾. Sie eignet sich sehr gut zur Bestimmung des Ammoniaks in Lösungen mit andern leicht zersetzlichen Stickstoffverbindungen und wird deshalb in der Lebensmittelchemie oft angewandt.

Nach *Boemer*¹⁾ wird die Bestimmung folgendermassen ausgeführt:

Die zu untersuchende Lösung bringt man in eine Drechsel-Waschflasche von etwa 20 cm Höhe und ca. 5 cm Durchmesser, in deren Ausführungsrohr zur Zurückhaltung etwa mechanisch mitgerissener Tröpfchen ein Wattebausch eingeschoben ist. Daran schliesst man als Absorptionsgefäss eine Waschflasche an, die mit 0,1n-Schwefelsäure und erforderlichenfalls noch mit soviel Wasser beschickt ist, dass die Flüssigkeit etwa 15 cm über dem oberen Ansatz der Absorptionsvorrichtung (*Jenaer Gasverteiler*) steht.

Durch diese beiden Waschflaschen wird mittels einer Wasserstrahlpumpe ein starker Luftstrom hindurchgesaugt, der durch Vorschalten eines Natronkalkturmes und nötigenfalls — bei ammoniakhaltiger Laboratoriumsluft — einer Waschflasche mit verdünnter Schwefelsäure von Kohlensäure und Ammoniak befreit wird. Die Waschflasche mit der zu untersuchenden Lösung steht in einem Wasserbad zu 25° C.

Nach dreistündigem Durchsaugen der Luft ist alles NH₃ in die Vorlage übergeführt. Man nimmt diese ab, spült das Zuleitungsrohr und titriert den Inhalt mit 0,1n-NaOH unter Verwendung von Methylorange als Indikator.

Zur Erhöhung der Titrationsschärfe lassen sich sehr gut 0,02 und 0,01 normale Lösungen verwenden.

Folin empfiehlt zur schnelleren Austreibung des NH₃, das er mit Na-Carbonat in Freiheit setzt, einen Zusatz von 8—10 g Natriumchlorid und ferner, um das Schäumen der Destillationsflüssigkeit — namentlich bei eiweisshaltigen Lösungen — zu verhindern, einen Zusatz von 5—10 ml Petroleum oder Toluol. Verwendet man einen Luftstrom von 600—700 l/h und eine Temperatur von 20 bis 25° C, so ist nach *Folin* bei nicht zu grossen Mengen NH₃ dessen Abblasung in 1—1½ Stunden beendet. Wenn kein Gasverteiler zur Verfügung steht, so kann man nach *Folin* auch 2 Absorptionsflaschen hintereinander schalten.

Für die Praxis ist ausserdem bemerkenswert, dass die Apparatur verhältnismässig einfach ist, das Erhitzen sich erübrigt, und dass die Destillation wenig Aufsicht erfordert.

Eine Methode zur Abtrennung von Ammonium-Ion mittels Na-Permutit ist von *Folin* und *Bell*⁶⁾ vorgeschlagen worden. Ihr Vorteil gegenüber der Destillationsmethode liegt darin, dass kein Alkalizusatz, also keine wesentliche Änderung der Zusammensetzung der Ausgangslösung notwendig ist. Dazu kommt noch, dass man das eiweisshaltige Material der Einwirkung von Hitze entzieht.

Durch Ausschütteln mit Natriumpermutit wird das NH₄-Ion unmittelbar aus neutraler oder schwach saurer Lösung dadurch beseitigt, dass es an Stelle des Na-Ions im Permutit tritt und dafür das Na-Ion in die Lösung übergeht. Der

Ionenaustauscher (Permutit) kann dadurch wieder regeneriert werden, dass man ihn mit Wasser auswäscht und mit Lauge (NaOH) ausschüttelt. Dadurch wird NH_4 -Ion wieder gegen Na-Ion ausgetauscht. Das in Lösung gehende Ammonium kann entweder als Ammoniak abdestilliert oder direkt mit *Nesslers* Reagens colorimetrisch bestimmt werden.

Nachdem *Kolb*¹²⁾ bereits 1924 ein auf der Permutitmethode basierendes Verfahren zur NH_3 -Bestimmung im Urin bekanntgegeben hat, empfahlen *Burstein* und *Frum*³⁾ eine ähnliche Methode für Milch. Etwas später schlug *Kluge*¹⁰⁾ eine das Eiweiss möglichst schonende und schnellere Methode zur Bestimmung des NH_3 in Milch vor. Eine Änderung der *Bursteinschen* Methode bringt *Kluge* nur insofern, als er vor dem Ausschütteln mit Permutit das Milcheiweiss entfernt.

Kluges Methodik¹¹⁾ wurde von uns so weit modifiziert, als es für ihre Anwendung auf Käse erforderlich schien.

Im Gegensatz zu *Kluge*, der zum colorimetrischen Vergleich *Hehner*-Zylinder benutzt, verwendeten wir das photoelektrische Colorimeter «Lumetron» Modell 402 EF, unter Vorschaltung des Lichtfilters Nr. 44 (durchlässig für Licht von der Wellenlänge 440 m μ) und unter Anwendung einer Schichtdicke von 10 mm. Für die gewählte Arbeitsweise (vgl. Arbeitsvorschrift) wurde die Abhängigkeit zwischen Extinktion und Ammoniakmenge in Form einer Kurve festgelegt (vgl. Abbildung).

Die colorimetrische Bestimmung des Ammoniaks wird wie folgt ausgeführt:

10,0 g fein geriebener Käse werden in ein 150-ml-Becherglas gegeben und bei ca. 45° C mit 40 ml 0,5n-Natriumzitat vermenget. (Zuerst wird mit nur 10—15 ml Na-Zitrat angerührt, bis die Masse homogen erscheint, erst dann wird der Rest hinzugefügt.) Nach Zugabe von ca. 50 ml Wasser muss die Emulsion unter ständigem Weiterrühren während einer halben Stunde auf dem Wasserbad bei 40—50° C gehalten werden (vollständige Auflösung des Käses). Die Masse wird mit Wasser quantitativ in einen 200-ml-Messkolben übertragen, auf 20° C abgekühlt und mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt.

Zur Bestimmung des Gesamtstickstoffes der Lösung werden 10 ml (= 0,5 g Käse) nach *Kjeldahl* weiterbehandelt, während zur Erfassung des Ammoniakstickstoffes 25 ml Zitratlösung (= 1,25 g Käse) in einen Erlenmeierkolben pipettiert und mit dem gleichen Teil Trichloressigsäure (20%oig) tropfenweise unter Umschütteln versetzt werden. Nach kurzem, kräftigem Schütteln wird durch ein ammoniakfreies Faltenfilter filtriert.

Sollte das Filtrat trübe abfließen, setzt man eine Messerspitze Kieselgur und Tierkohle der zu filtrierenden Flüssigkeit zu.

25 ml des klaren Filtrates werden mit NaOH (10%oig) bis zur schwach sauren Reaktion versetzt (Tüpfelprobe mit Lackmuspapier; Verbrauch für 25 ml Filtrat 5—6 ml Lauge).

Nun wird die Flüssigkeit unter dreimaligem Nachwaschen mit Wasser in einen 100-ml-Messkolben übergeführt. (Im Messkolben befinden sich bereits 2 g Permutit, der in dem Kolben vorher zwecks Reinigung mit 20 ml Wasser ausgewaschen, darauf mit ca. 20 ml Essigsäure (2%oig) geschüttelt und wieder zweimal ausgewaschen worden ist.)

Nach 3 Minuten langem, kräftigem Schütteln des Käseserums wird dieses abgegossen, nachdem der Permutit vorher mit Wasser von Kolbenhals und Wandung abgespritzt wurde. Der zurückbleibende Permutit, welcher sich wegen seiner Schwere stets sehr schnell zu Boden setzt, wird dreimal mit Wasser gewaschen und darauf mit etwa 20 ml Wasser und 2 ml NaOH (10%ig) versetzt (= Endlösung).

Nach Auffüllen mit Wasser auf etwa 70 ml fügt man 2 ml *Nesslers* Reagens hinzu, füllt sodann auf 102 ml auf (2 g feinkörniges Na-Permutit verdrängen ca. 2 ml Flüssigkeit) und lässt nach gutem Durchschütteln 15 Minuten stehen.

Die Lösung wird sodann in eine Küvette übergeführt und eine Messung ihrer Transparenz vorgenommen.

Die Photometerablesung wird folgendermassen ausgewertet: Ist z.B. $D = 51\%$ die an der Potentiometerskala abgelesene prozentische Lichtdurchlässigkeit der Versuchsprobe gegenüber dem reinen Lösungsmittel, so beträgt die nach der Formel

$$E = (2 - \log. D) \cdot \frac{1}{d}$$

berechnete Extinktion $E = 0,292$.

Der Extinktionswert ist von der Dicke der durchstrahlten Schicht (d) linear abhängig und wird einheitlich auf eine Schichtdicke von 1 cm umgerechnet.

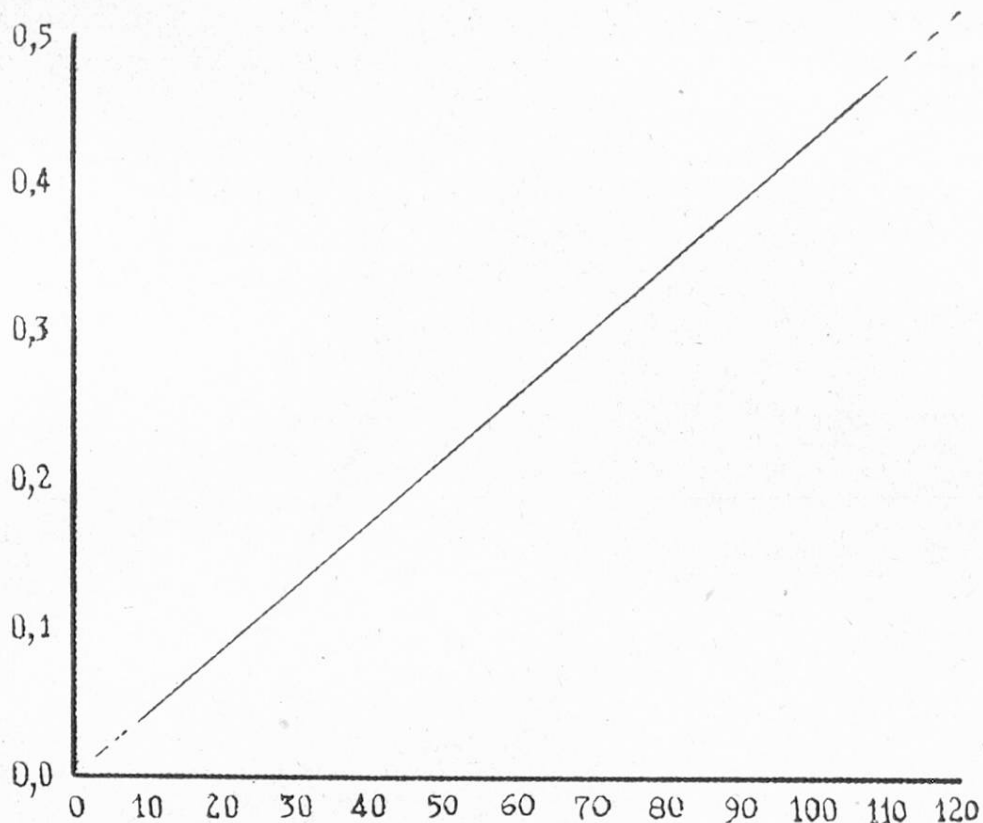
Man findet in der Graphik als den zu $E = 0,292$ gehörenden Wert die NH_3 -Konzentration von $68 \gamma \text{NH}_3\text{-N/ml}$. Dies sind aber $68 \cdot 40 = 2,72 \text{ mg NH}_3\text{-N/l g Käse}$. Demnach wären $0,272\%$ $\text{NH}_3\text{-N}$ in der Käsemasse enthalten. Da man meistens die Stickstoff-Fractionen im Käse als prozentischen Anteil am Gesamt-N angibt, wären dies:

$$\frac{0,272 \cdot 100}{\text{GN (in \%)} } = \text{NH}_3\text{-N in \% des GN}$$

Da die Eichkurve (vgl. Abb.) nicht auf halblogarithmischem Papier aufgetragen ist, sondern — was die Ablesung etwas erschwert — auf gewöhnlichem Millimeterpapier, kann man die NH_3 -Konzentration exakter dadurch ermitteln, dass man die Extinktion in die Formel $k = \frac{100 \cdot E}{0,43}$ einsetzt. Es ist die Gleichung jenes Bereiches der vorliegenden Eichkurve, in dem das *Beersche Gesetz* gilt.

Bei der Aufnahme der Eichkurve zeigte es sich, dass die Verunreinigung der Lösung durch Aufnahme von NH_3 aus der Luft oder aus den Reagenzien so weit als nur möglich zu vermeiden ist. Aus diesem Grunde wurde zu Verdünnungen nur ammoniakfreies dest. Wasser benutzt, ferner die zur Verwendung kommenden Gefässe zuvor mit ammoniakfreiem Wasser gespült und die Normallösung aus reinem, bei 105°C getrocknetem $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ hergestellt.

Etwas unangenehm überraschte die Feststellung, dass das *Beersche Gesetz* (wonach die Extinktion proportional der Ammoniakmenge ist) nur in einem gewissen Bereich der Kurve gilt. In diesem Bereich betrug der mittlere Fehler der Einzelbestimmung bis zu $\pm 8\%$.



Abszisse: $\%$ Ammoniakstickstoff im ml Substrat (k)
 Ordinate: Extinktionskoeffizient (E)

Eichkurve für colorimetrische Bestimmung des Ammoniakstickstoffes
mit Hilfe des Photometers «Lumetron» Mod. 402 EF

Unterhalb von etwa 2γ $\text{NH}_3\text{-N/ml}$ wird die Farbstärke durch die Eigenfarbe des *Nessler*-Reagens beeinflusst. Daher wurde, um das photometrische Gerät eichen zu können, die Eigenfarbe der Blindprobe willkürlich dem 100%igen Lichtdurchgang ($E = 0$) gleichgesetzt. Bei Konzentrationen von über 100γ $\text{NH}_3\text{-N/ml}$ konnte dagegen eine zunehmende Tendenz der Kurve zur Verflachung festgestellt werden. Diese letztere Erscheinung mag ihren Grund in der zu hohen Konzentration von Ammoniak haben, die eine allmähliche Ausflockung des kolloiden Farbstoffes (Amidomercurijodid) bedingt.

Im erwähnten Bereich ist die gelbe bis gelbbraune Farbe der Amidoquecksilberverbindung ziemlich beständig und reproduzierbar. Es scheint jedoch nicht jedes *Nessler*-Reagens für colorimetrische Bestimmungen gleich gut geeignet zu sein. Ein nach dem Rezept *Winklers*¹⁷⁾ hergestelltes Reagens war, was die Farbbeständigkeit anbetrifft, deutlich schlechter, als ein nach der Vorschrift *Treadwells*¹⁵⁾ angefertigtes.

Cleghorn und *Jendrassik*⁴⁾ haben mit verschiedenen zusammengesetzten Reagenzien ähnliche Erfahrungen gemacht und schrieben dies dem geringen KJ-Gehalt des *Winklerschen* Reagenses zu.

Der Unterschied in der Wirkung der einzelnen Reagenzien ist so bedeutend, dass man von Zeit zu Zeit, stets aber vor Inanspruchnahme neuer Reagenzien, die Extinktion mittels eines Blindversuches nachprüfen und die Eichkurve korrigieren sollte.

Zur Überprüfung des Verfahrens wurde dieses an einigen Käsen ausprobiert, wobei zu Kontrollzwecken der Ammoniakstickstoff auch durch Ausblasung nach *Folin* ⁵⁾ bestimmt wurde. Die folgenden beiden Tabellen geben Beispiele der durchgeführten Versuche.

Tabelle 1

Bestimmung des $\text{NH}_3\text{-N}$ in altem, angeschnittenem Emmentaler Käse
(Gesamtstickstoff = 4,58 %))

Einzelmessung Nr.	Colorimetrische Methode abgelesen γ $\text{NH}_3\text{-N/ml}$	Ausblaseverfahren $\text{NH}_3\text{-n}$ in $\gamma/25$ ml Käselösung
1	11,0	621
2	13,0	596
3	11,5	592
4	12,0	656
5	12,5	664
6	13,5	688
7	10,5	618
8	12,0	581
Mittelwert	12,0	627,0
Mittlerer Fehler	+0,90	+38,6
Mittlerer Fehler in % des Mittelwertes	+7,2	+ 6,2
$\text{NH}_3\text{-N}$ in % der Käsemasse	0,048	0,050
$\text{NH}_3\text{-N}$ in % des Gesamt-N	1,05	1,12

Aus den Tabellen ist ersichtlich, dass die mittlere Abweichung der einzelnen colorimetrischen Bestimmung vom Mittelwert mehrerer Bestimmungen umso grösser wird, je weiter die zu messende NH_3 -Konzentration gegen den Rand des messbaren Bereiches zu liegt. Ferner fällt, besonders bei den Zahlen der Tabelle 1, der Unterschied zwischen dem durch Colorimetrie ermittelten $\text{NH}_3\text{-N}$ -Gehalt und dem Ergebnis des Kontrollverfahrens auf. Die Kontrollbestimmung nach *Folins* ⁵⁾ Ausblasmethode lieferte, verglichen mit dem colorimetrischen Verfahren, einen um 8 % höheren Wert.

Diese schlechte Übereinstimmung findet ihre Erklärung in der Überlegung, dass einerseits die Möglichkeit der Abtrennung von $-\text{NH}_2$ -Randgruppen von in der Lösung vorhandenen Aminosäuren durchaus offen steht und andererseits sehr wohl etwas NH_3 beim Ausschütteln im Permutit zurückgeblieben sein könnte. *Borsook* ²⁾ hat schon früher feststellen können, dass bis zu 0,1 mg NH_4 auf 100 ml Lösung im Ionenaustauscher zurückbleiben.

Tabelle 2
Bestimmung des $\text{NH}_3\text{-N}$ in Limburger Käse
(Gesamtstickstoff = 3,336 %))

Einzelmessung Nr.	Colorimetrische Methode abgelesen γ $\text{NH}_3\text{-N/ml}$	Ausblaseverfahren $\text{NH}_3\text{-N}$ in $\gamma/25$ ml Käselösung
1	34,0	1782
2	35,0	1777
3	34,5	1750
4	36,0	1779
5	34,0	1786
6	35,0	1780
7	36,0	1773
8	35,5	1792
Mittelwert	35,0	1777,4
Mittlerer Fehler	$\pm 0,80$	$\pm 11,31$
Mittlerer Fehler in % des Mittelwertes	$\pm 2,29$	$\pm 0,64$
$\text{NH}_3\text{-N}$ in % der Käsemasse	0,140	0,142
$\text{NH}_3\text{-N}$ in % des Gesamt-N	4,20	4,25

Was die Analysengenauigkeit anbetrifft, scheint das Ausblaseverfahren keineswegs hinter dem colorimetrischen zurückzustehen. Das letztere nimmt allerdings — wenn einmal die Eichkurve aufgezeichnet ist — für Einzelanalysen weniger Zeit in Anspruch.

Folins Ausblasemethode lässt sich dagegen für Reihenbestimmungen recht gut verwenden, indem man unmittelbar an die Vorlage des einen Versuches das Umsetzungsgefäß des nächsten anschliesst und auf diese Weise den selben Luftstrom für eine ganze Probenreihe verwendet. In den vorliegenden Versuchen bestand die Schwierigkeit beim Ausblaseverfahren darin, einen hinreichend starken Durchlüftungsstrom (*Folin* schreibt einen solchen von 600—700 l/h vor) zu erzeugen.

Schlussfolgerungen

Die von *Kluge*¹⁰⁾ vorgeschlagene Methode zur Ammoniakbestimmung in Milch lässt sich, mit einigen Abänderungen, auch auf die Untersuchung von Käse ausdehnen. Es ist nicht von Belang, ob man dabei von einer wässerigen Käselösung oder von einer Zitratlösung des Käses ausgeht. Wichtig ist das genaue Befolgen der einmal angenommenen Arbeitsvorschrift, da bei jeder Änderung der Arbeitsweise oder der Reagenzien wieder eine neue Eichkurve aufgezeichnet werden muss. Bei Verwendung von Natriumzitrat als Lösungsmittel des Käses konnte eine grössere Farbtiefe des mit *Nessler*-Lösung versetzten Serums festgestellt werden. Dies hängt wohl mit den sich in der Lösung befindenden Natriumionen zusammen. Die von *Kluge* für das Einwirken des *Nessler*-Reagens vorgeschlagene Zeit (5—10 Minuten) erwies sich als zu kurz; wir wählten daher

15 Minuten. Die grösste Farbstärke wird erst nach dem Verstreichen einer Zeitspanne von über 10 Minuten erreicht. Der Bereich der linearen Abhängigkeit zwischen Extinktion und Ammoniakmenge könnte eventuell durch Zugabe eines sogenannten «Schutzkolloides» erweitert werden. Als solches schlägt *Herzfeld*⁹⁾ eine 10/ige Gelatinelösung vor, andere Autoren arbeiten mit einer Lösung von Gummi arabicum, während *Fuchs*⁸⁾ Gummi gatthi verwendet und gleichzeitig darauf hinweist, dass dieses ebenso wie das Gummi arabicum mit wachsender Konzentration in stärkerer Masse die Empfindlichkeit von *Nesslers* Reagens abschwächt.

Zusammenfassung

Es wird ein Verfahren zur Bestimmung des Ammoniaks in Käse beschrieben. Dem auf spezielle Weise (vgl. Arbeitsvorschrift) dargestellten Käseserum setzt man *Nesslers* Reagens zu und ermittelt die von der Ammoniakmenge abhängende Farbintensität der Flüssigkeit mit Hilfe eines photoelektrischen Colorimeters.

Résumé

Il s'agit d'un procédé pour la détermination de la teneur du fromage en ammoniaque. Après avoir ajouté du réactif de *Nessler* au sérum du fromage préparé de façon spéciale, on peut déterminer, au moyen d'un colorimètre photo-électrique, la quantité d'ammoniaque correspondante à l'intensité de la coloration du liquide.

Summary

A description is given of a process for the determination of ammonia in cheese. *Nessler* reagent is added to the cheese serum, which is produced in a special way. With the aid of a photo-electric colorimeter the amount of ammonia, in relation to the colour intensity of the liquid, is ascertained.

Literatur

- 1) *A. Boehmer*: Handbuch der Lebensmittelchemie, Bd. II/2, 646, Berlin 1936.
- 2) *J. Borsook*: J. biol. Chem. **110**, 481 (1935).
- 3) *A. J. Burstein* und *F. S. Frumm*: Ztschr. für Untersuchung der Lebensmittel **69**, 421 (1935).
- 4) *R. Cleghorn* und *Jendrassik*: Bio. Z. **274**, 189 (1934).
- 5) *O. Folin*: Ztschr. physiol. Chem. **37**, 161 (1902).
- 6) *O. Folin* und *R. O. Bell*: J. biol. Chem. **29**, 329 (1917).
- 7) *O. Folin*: nach *T. Teorell*: Biochem. Ztschr. **248**, 246 (1932).
- 8) *H. J. Fuchs*: Biol. Z. **245**, 304 (1932).
- 9) *E. Herzfeld*: Mikrochemie **17**, 304 (1932).
- 10) *H. Kluge*: Ztschr. für Untersuchung der Lebensmittel **71**, 234 (1936).
- 11) *H. Kluge*: Ztschr. für Untersuchung der Lebensmittel **71**, 235 (1935).
- 12) *A. Kolb*: Chem. Ztg. **48**, 557 (1924).
- 13) *M. T. S. Mogensen*: Meddelande Statens Mejeriförsök **21**, 324 (1948).
- 14) *J. K. Parnas* und *J. Heller*: Bio. Z. **152**, 1 (1924).
- 15) *F. P. Treadwell*: Lehrbuch der analyt. Chemie Bd. I, 1930.
- 16) *H. Trommsdorf*: Fresenius' Ztschr. **8**, 352 (1869).
- 17) *L. W. Winkler*: Z. **49**, 163 (1925).