

# Beitrag zum Nachweis von pflanzlichen Fetten und Ölen mittelst der Phytosterinacetatprobe

Autor(en): **Hadorn, H. / Jungkunz, R.**

Objektyp: **Article**

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

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

Heft 5

PDF erstellt am: **12.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-984035>

## **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.

# Beitrag zum Nachweis von pflanzlichen Fetten und Ölen mittelst der Phytosterinacetatprobe

Von *H. Hadorn* und *R. Jungkuntz*

(Laboratorium VSK, Basel)

Für die Prüfung von Fettgemischen auf Phytosterin schreibt das Schweiz. Lebensmittelbuch<sup>1)</sup> die Methode von *Kühn* und *Wewerinke*<sup>2)</sup> vor. Textlich stimmt nun die dort angegebene Vorschrift nicht ganz mit der Originalvorschrift der beiden angegebenen Verfasser überein; vielmehr enthält sie gewisse Abweichungen, so wie sie die deutsche sogenannte amtliche Vorschrift<sup>3)</sup> vom 19. 1. 1921 aufweist. (Erhitzen zum Abscheiden der Fettsäuren, Rühren ohne Turbine usw.) Unseres Erachtens befriedigt die erwähnte Vorschrift des Lebensmittelbuches nicht ganz; sie geht von mindestens 50 g Substanz aus, und besonders bei Hartfetten ist es nicht immer leicht, den Niederschlag abzunutschen und die gefällten Sterindigitonide restlos von den Fettsäuren zu befreien. Dies erfordert dann ein mehrmaliges Umkristallisieren der Sterinacetate, so dass vorschriftsgemäss erst das 3. Kristallisationsprodukt für die Bestimmung des Schmelzpunktes brauchbar wird.

Allgemein ist noch hervorzuheben, dass in den tierischen Fetten sich das Cholesterin fast vollständig in freiem Zustande befindet, während das Phytosterin in den pflanzlichen Fetten und Ölen teils frei, teils gebunden vorhanden ist. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit, zur Erlangung der gesamten Sterine das betr. Fettmaterial zu verseifen.

Aus all diesen Gründen haben wir versucht, den zuerst von *Bömer*<sup>4)</sup> benutzten Weg über das Unverseifbare für unsere Zwecke dienstbar zu machen. Da wir vor kurzem in einer Publikation «Über den Gehalt an Unverseifbarem und Gesamtsterinen in Speisefetten und Speiseölen»<sup>5)</sup> in grösserem Masstabe Sterinbestimmungen durchgeführt haben, lag der Gedanke nahe, die anfallenden Sterine zu acetylieren und auf ihren Schmelzpunkt hin zu prüfen. Da das Unverseifbare erst nach einer zweiten Verseifung und nach mehrfacher Ausschüttelung mit Äthyläther isoliert und die Sterine nach einer von uns<sup>6)</sup> modifizierten gravimetrischen Digitoninmethode rein gewonnen worden waren, hofften wir mit ganz wenigen Kristallisationen auskommen zu können. Bei dem ursprünglichen «quantitativen» Vorgehen mussten die Sterindigitonide zunächst aus dem Tiegel mit absol. Alkohol extrahiert und schliesslich nach dem Vertreiben des Alkohols acetyliert werden. Das Kristallisieren und die Bestimmung des Schmelzpunktes erfolgten nach den Vorschriften des Lebensmittelbuches.

Einige so «quantitativ» bei einer Einwaage von 20 g durchgeführten Versuche ergaben die in den Tabellen 1 und 2 wiedergegebenen Resultate.

Wie aus diesen Versuchen ersichtlich ist, stimmen die Schmelzpunkte (2. Kristallisation) der Phytosterin- und Cholesterinacetate mit denen der Literatur

Tabelle 1

	Unverseifbares %	Sterine mg %	Schmelzpunkt des Sterin- acetates 2. Kristallisation aus Alkohol	
Mischung aus gleichen Teilen Premier Jus und Schweinefett	} 0,40	89,8	0 112	
reines Rindsfett			0,30	92,4 114,4
reines Teesamenöl			0,87	149,1 120,4
reines Nussöl			0,41	176,4 120,8

überein. Dabei hat man sich vor Augen zu halten, dass sich die Schmelzpunkte der Sterinacetate nach *Kofler* <sup>7)</sup> in folgenden Grenzen bewegen:

Cholesterinacetat	113 — 115° C
Phytosterinacetat	119,5 — 131° C

Anschliessend wurden sodann Mischungen verschiedener tierischer Fette mit pflanzlichen Ölen hergestellt und von 2 Analytikern im vorstehenden Sinne geprüft. Die Ergebnisse gehen aus Tabelle 2 hervor.

Tabelle 2

	Unverseifbares %	Sterine mg %	Schmelzpunkt 2. Kristallisation aus Alkohol
Rindsfett + 5 % Teesamenöl	0,30	104	0 117,4
Premier Jus + 15 % Cottonöl	0,53 0,526	142 138	123,0 125,0
Schweinefett + 30 % Sonnen- blumenöl	0,58 0,504	158 155	119,2 119,0

Wie auch aus dieser Versuchsreihe hervorgeht, gelingt es, durch die «quantitativ» durchgeführte Arbeitsvorschrift — nach 2maliger Kristallisation — den Nachweis von Pflanzenfett in Tierfett zu erbringen. Die Schmelzpunktangabe bezieht sich auf das vollständige Schmelzen des Acetats (Klarschmelzpunkt). Da die Schmelzpunktbestimmungen mit einem verkürzten Normalthermometer für die Temperaturen von 100—150° ausgeführt worden sind, war eine Korrektur nicht erforderlich. 5 % Pflanzenfett lassen sich demnach in einer Fettmischung mit Sicherheit nachweisen. *Bömer* <sup>8)</sup> hat sogar 1—2 % Baumwollsaamenöl und Erdnussöl in Schweinefett nachweisen können. Andererseits haben *Arnold* <sup>9)</sup> und *Klostermann* <sup>10)</sup> darauf hingewiesen, dass bei selbst hergestellten Mischungen

von Butterfett und Kokosfett (bis zu 10 %) die Phytosterinacetatprobe nicht zum Ziele führt, weil der Gehalt des Kokosfettes an Phytosterin je nach Raffinationsgrad sehr gering, ja sogar null sein kann. Auch Mowrahfett und Sheabutter sollen nach dem Handbuch <sup>11)</sup> so wenig Phytosterine enthalten, dass der Nachweis dieser Pflanzenfette in tierischen nicht möglich ist.

Nach der von uns benutzten, allerdings etwas zeitraubenden «quantitativen» Methode ist der Phytosterinnachweis einwandfrei gelungen. Es sollte nun geprüft werden, ob sich die Methode nicht etwas vereinfachen liesse. Die Fettmischung wurde nur einmal verseift und die Seifenlösung nur einmal mit Äther ausgeschüttelt. Dabei zeigte sich, dass auf diese Weise nur etwa die Hälfte der vorhandenen Sterine isoliert wurden. Ein mehrmaliges Ausschütteln mit Äthyläther ist daher unbedingt notwendig. In einem weiteren Versuch wurde wie folgt verfahren:

20 g eines Gemisches von Rindstalg und 5 % Erdnussöl wurden wie üblich verseift, jedoch dreimal ausgeschüttelt, und zwar einmal während einer Minute mit 200 cm<sup>3</sup>, später dann noch zweimal mit je 150 cm<sup>3</sup> Äthyläther.

Dabei wurden etwas höhere Resultate für das Unverseifbare und die Sterine gefunden, was auf geringe Verunreinigungen durch das abgekürzte Verfahren zurückzuführen ist. Die gewogenen Ausbeuten ergaben jetzt:

	Abgekürztes Verfahren	„Quantitative Methode“
Unverseifbares Sterine	0,49 % 117,8 mg <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,38 % 100,0 mg <sup>0</sup> / <sub>0</sub>

Die Fällung der Sterine erfolgte in üblicher Weise mit Digitonin, wobei der Digitoninüberschuss nicht zu gross bemessen werden soll. Tierische Fette, mit Ausnahme von Butterfett, enthalten 100—120 mg<sup>0</sup>/<sub>0</sub> Sterine. Nehmen wir einen hohen Pflanzenölzusatz mit 30 % an, bei welchem mit einem mittleren Steringehalt von 300 mg<sup>0</sup>/<sub>0</sub> gerechnet werden darf, so würde eine derartige Mischung rund 160 mg<sup>0</sup>/<sub>0</sub> Sterine aufweisen. Bei einer Einwaage von 20 g ergäben sich rund 30 mg Sterine, welche zu ihrer Fällung 90 mg Digitonin oder rund 10 cm<sup>3</sup> einer 1%igen Digitoninlösung beanspruchen würden. Auf diese Weise wird man in allen Fällen eine genügende Menge Sterindigitonide erhalten, um das Phytosterin nachweisen zu können. Es war jetzt nur noch abzuklären, wie man die Sterinacetate am einfachsten und in möglichst reiner Form erhalten kann.

Nach der Vorschrift des Lebensmittelbuches werden die Sterindigitonide mit Essigsäureanhydrid gekocht und die dabei entstehenden Sterinacetate wiederholt aus Alkohol umkristallisiert. Wir machten die Beobachtung, dass man die Sterinacetate viel reiner erhält, wenn man sie sogleich nach dem Acetylieren aus Essigsäureanhydrid auskristallisieren lässt.

Die Anregung, aus Essigsäureanhydrid auszukristallisieren, geht von *Kühn* und *Wewerinke*<sup>2)</sup> aus, welche schreiben:

«Lässt man die klare, nötigenfalls durch Watte oder durch ein kleines Papierfilterchen heiss filtrierte Essigsäureanhydridlösung erkalten, so scheiden sich schön ausgebildete Kristalle aus, die bei unverfälschten tierischen Fetten nach Auswaschen mit kaltem 96%igem Alkohol und hinterher mit absolutem Alkohol schon aus fast reinem Cholesterinacetat bestehen. Der Schmelzpunkt dieser Acetate wurde bei weiterem Umkristallisieren aus absolutem Alkohol meist nur gering — um Bruchteile eines ganzen Grades — erhöht.»

und weiter:

«Bei einem 1% Cottonöl enthaltenden Schmalze war der Schmelzpunkt der aus Essigsäureanhydrid erhaltenen ausgewaschenen Kristalle schon 116,8°. Bei den vorstehenden Proben ist der nach der ersten Kristallisation aus Alkohol erhaltene Schmelzpunkt im Gegensatz zu der vorigen Tabelle (S. 372) meist niedriger als der bei der Kristallisation aus Essigsäureanhydrid erhaltene und erreicht letzteren erst bei der zweiten und dritten Kristallisation. Es erklärt sich dies aus dem Umstand, dass das abgespaltene Digitonin bzw. Digitoninacetat durch die Kristallisation aus Alkohol schwieriger entfernt wird als durch Kristallisation aus Essigsäureanhydrid.»

Bei unseren Versuchen fiel uns ebenfalls auf, dass aus Essigsäureanhydrid kristallisierte Acetate schön weiss und kristallinisch waren und scharf schmolzen. Obwohl *Kühn* und *Wewerinke*<sup>2)</sup> im Verlaufe ihrer Arbeit immer wieder mit der Kristallisation aus Essigsäureanhydrid zu sympathisieren scheinen, z.B. wenn sie an einer weiteren Stelle sagen:

«Man erhält auch sofort bei der ersten Alkoholkristallisation, sowie *bei der ersten Kristallisation aus Essigsäure schneeweisse Kristalle*, ohne jede klebrige Beschaffenheit»,

empfehlen sie in ihrer endgültigen Vorschrift ohne weitere Erklärung doch die Alkoholkristallisation. In einer späteren Arbeit nehmen dann *Kühn*, *Bengen* und *Wewerinke*<sup>12)</sup> endgültig Abstand von der Essigsäureanhydridkristallisation, indem sie ausführen:

«Ein blosses Auskristallisieren des Acetates aus der Essigsäureanhydridlösung allerdings, wie es von anderer Seite vorgeschlagen und auch von uns erwogen wurde, empfiehlt sich nicht, da kleine Mengen Sterinacetat auch in der Kälte in Essigsäureanhydrid gelöst bleiben. Aus einer Lösung von 0,02 g Sternidigitonid eines Schmalzes in 3 cm<sup>3</sup> Essigsäureanhydrid z.B. fiel nach vollkommener Acetylierung beim Erkalten nichts aus. Andererseits bleibt eine durch Kochen hergestellte Lösung von 0,25 g Digitonin in 5 cm<sup>3</sup> Essigsäureanhydrid nicht klar, sondern scheidet beim Erkalten einen Teil des Digitonins, vermutlich als Acetat, wieder ab.»

Die von den genannten Autoren angeführten Mängel dürften praktisch kaum in Erscheinung treten, wie aus folgenden Erwägungen ersichtlich wird.

Pflanzliche Öle enthalten Phytosterinmengen von 160—700 mg<sup>0/0</sup>.

Tierische Fette dagegen rund 100 mg<sup>0/0</sup> Cholesterin.

Nehmen wir den ungünstigsten Fall (tierische Fette) mit 100 mg<sup>0</sup>/<sub>0</sub> Cholesterin an, so würden bei einer Einwaage von 20 g Fett 20 mg Sterin resultieren. Diese 20 mg Sterin entsprechen rund 80 mg Sterindigitonid, somit genügend, um in 3 cm<sup>3</sup> Acetylierungsflüssigkeit auszukristallisieren. Der andere Einwand, 250 mg Digitonin würden nach dem Acetylieren beim Erkalten als Digitoninacetat abgeschieden, dürfte deswegen sich nicht auswirken, weil wir auf 20 g Einwaage nur 100 mg Digitonin zugeben.

An zahlreichen Versuchen haben wir die Vorgänge beim Auskristallisieren aus Essigsäureanhydrid beobachten können und in allen Fällen recht befriedigende Resultate erzielt. Die Sterine fallen nach kurzer Abkühlungszeit als sehr schön weisse Kristalle aus, deren Schmelzpunkte gegenüber den aus Alkohol auskristallisierten scharf und eindeutig waren. Die in nachstehender Tabelle 3 wiedergegebenen Schmelzpunkte wurden ausschliesslich nach dem Auskristallisieren der Sterinacetate aus Essigsäureanhydrid (1. Kristallisation) erhalten:

*Tabelle 3*  
*Schmelzpunkte der Sterinacetate*

	Eigene Werte (1. Kristallisation aus Essigsäureanhydrid) ° C	Literaturangaben (Kristallisation aus Alkohol) ° C
Maisöl	125,0	—
Nussöl	123,0	—
Rapsöl	133,0	128
Rapsöl, gehärtet	132,2	—
Sojaöl	126,2	129
Senföl	129,8	—
Teesamenöl	119,8	—
Butterfett	113,0	114
Rindstalg + 5 % Erdnussöl	118,8	—

Obwohl die Bestimmung in den 8 Fetten nur mit einer Einwaage von 16 g durchgeführt worden war, ergab sich doch in allen Fällen genügend Material für eine Schmelzpunktsbestimmung. Üblicherweise verwendeten wir sonst 20 g Fett.

Es wären abschliessend auch noch einige Worte über die in zahlreichen Publikationen vorgeschriebenen Apparate und Gefässe zu erwähnen, welche sowohl bei der Ausfällung der Sterine aus den Fettsäuren als auch zum Acetylieren der Sterine empfohlen werden. Da wir vom Unverseifbaren ausgehen, erübrigt sich bei unserer Arbeitsweise jede zusätzliche Apparatur, und das Acetylieren gelingt sehr gut in einem kleinen Bechergläschen (20 cm<sup>3</sup>) mit aufgelegtem Uhrglas. Aus allen unseren verschiedenen Versuchen und Beobachtungen ergab sich die folgende

## Methodik

### Prinzip

Das Untersuchungsmaterial wird verseift und anschliessend das Unverseifbare mit Äthyläther isoliert. Man fällt die Sterine mit Digitonin, acetyliert mit Essigsäureanhydrid, worauf die Sterinacetate direkt aus dem Essigsäureanhydrid auskristallisieren. Schliesslich wird der Schmelzpunkt der so erhaltenen Sterinacetate bestimmt.

### Reagenzien

Alkohol 90 Vol.-%

Äthyläther

Kaliumhydroxyd in Plätzchenform

Frisch bereitete 1,0%ige Lösung von Digitonin in 80%igem Alkohol

(1 cm<sup>3</sup> = 10 mg Digitonin)

Aceton

Essigsäureanhydrid.

#### 1. Bestimmung des Unverseifbaren (einmalige Verseifung)

20 g Öl oder Fett werden in einem 250-cm<sup>3</sup>-Stehkolben mit 5 g KOH-Plätzchen und 40 cm<sup>3</sup> 90%igem Alkohol versetzt und während einer Stunde am Rückflusskühler erhitzt. Die noch nicht ganz erkaltete Seifenlösung wird in einen 1/2 Liter fassenden Scheidetrichter übergeführt und mit 120 cm<sup>3</sup> dest. Wasser verdünnt. Nach guter Abkühlung wird mehrmals mit Äthyläther ausgeschüttelt, und zwar einmal mit 200 cm<sup>3</sup> während mindestens einer Minute; dann erfolgen noch 2 Ausschüttelungen mit je 150 cm<sup>3</sup> Äthyläther, wobei nur während 20—30 Sekunden geschüttelt wird. Die erste Schichtentrennung erfolgt ziemlich rasch, während die übrigen zwei etwas verzögert erfolgen. Die Ätherauszüge werden dann vereinigt und dreimal mit je 20 cm<sup>3</sup> dest. Wasser alkalifrei gewaschen (Kontrolle: Phenolphthaleinreaktion). Nachher wird der Ätherextrakt in einen Kolben bis auf wenige cm<sup>3</sup> abdestilliert, mit 6 cm<sup>3</sup> Aceton versetzt (zur Entfernung der Feuchtigkeit) und auf dem kochenden Wasserbad bis zum Verschwinden des Acetongeruchs belassen.

#### 2. Ausfällung der Sterine

Das Unverseifbare versetzt man mit 10 cm<sup>3</sup> Aceton, erwärmt bis zum Siedebeginn und gibt 10 cm<sup>3</sup> 1%ige alkoholische Digitoninlösung zu. Die Sterindigitonide fallen fast augenblicklich aus, und man lässt das Kölbchen unter gelegentlichem Umschwenken einige Minuten stehen und dampft dann bei schräg gestelltem Kölbchen auf dem kochenden Wasserbad bis nahezu zur Trockne ein. Der Rückstand wird hernach mit 50 cm<sup>3</sup> heissem Wasser aufgenommen, der Niederschlag mit einem Glasstab gut aufgerührt, zum Sieden erhitzt und 2—3 Minuten unter Umrühren gekocht, um das überschüssige Digitonin zu lösen. Dann lässt man auf ca. 60° abkühlen, versetzt mit 25 cm<sup>3</sup> Aceton und erwärmt nochmals kurze Zeit bis zum beginnenden Sieden. Es wird dadurch der kolloidale Zustand etwas behoben und das Filtrieren erleichtert. Man filtriert durch ein Schwarz-

band-Rundfilter (Schleicher & Schuell 9 cm), was ziemlich rasch von statten geht. Ausgewaschen wird nacheinander mit 10 cm<sup>3</sup> Aceton, 5 cm<sup>3</sup> Äther, 5 cm<sup>3</sup> Chloroform und schliesslich mit 10 cm<sup>3</sup> Äther, wobei man an der Saugpumpe zum Schlusse noch absaugt. Das Filter wird im Trockenschrank getrocknet, worauf das Sterindigitonid mit einem Taschenmesser oder einem Spatel leicht vom Filter gelöst werden kann.

### *3. Acetylierung und Kristallisation des Sterindigitonids*

Das vom Filter abgelöste pergamentartige Digitonid bringt man in ein kleines Bechergläschen von 20 cm<sup>3</sup>, fügt 3 cm<sup>3</sup> Essigsäureanhydrid zu und kocht mit aufgelegtem Uhrglas, bis sich alles gelöst hat (ca. 10 Minuten). Dann filtriert man heiss durch ein kleines Wattebäuschchen in ein Reagenzglas von ca. 15 cm<sup>3</sup> Inhalt, wobei man schliesslich das Wattebäuschchen mit einem Glasstab noch ausdrückt. Dann stellt man das Reagenzglas zum Abkühlen zur Seite, wo sehr bald der Kristallisationsprozess beginnt. Wenn derselbe nach dem Erkalten scheinbar zu Ende ist, stellt man das Ganze noch kurze Zeit (10 Minuten) in den Eisschrank oder in Eiswasser. In der Zwischenzeit richtet man sich ein Filter her (Rundfilter gehärtet 5 cm Durchmesser), welches in einen Trichter von ca. 2,5 cm eingepasst wird, und schliesst an die Saugpumpe an. Dann bringt man nach gutem Durchschütteln den Reagenzglasinhalt auf das Filterchen und saugt die Mutterlauge ab. Man spült mit wenig eiskaltem 90%igem Alkohol nach und trocknet das Filterchen im Trockenschrank.

### *4. Bestimmung des Schmelzpunktes*

Von diesen getrockneten Kristallen bestimmt man in üblicher Weise den Schmelzpunkt im Röhrchen. Die Auswertung ist folgende:

Liegt der Schmelzpunkt bei 117° (korrigiert) oder höher, so ist die Anwesenheit von pflanzlichem Fett oder Öl als erwiesen anzusehen.

### *Zusammenfassung*

1. Es wird eine neue Modifikation des Phytosterinnachweises besprochen und als Ersatz für diejenige des Schweiz. Lebensmittelbuches in Vorschlag gebracht.
2. Der Nachweis erfolgt über das Unverseifbare mit nachfolgender Fällung der Sterine als Digitonide.
3. Zur Kristallisation der Sterinacetate wird an Stelle von Alkohol Essigsäureanhydrid benutzt.
4. Die auf diese Weise festgestellten Schmelzpunkte stimmen mit denen der Literatur überein.

### *Résumé*

1. Description d'une nouvelle modification de la recherche de la phytostérine, modification qui est proposée pour remplacer celle décrite dans le «Manuel suisse des denrées alimentaires».



2. Cette recherche de la phytostérine passe par l'insaponifiable avec précipitation ultérieure des stérines par la digitonine.
3. La recristallisation des acétates de stérines est effectuée avec succès dans l'anhydride acétique, au lieu de l'alcool utilisé habituellement.
4. Les points de fusion des produits ainsi obtenus concordent avec ceux indiqués par la littérature.

### *Summary*

Modified method for the detection of phytosterol based upon the isolation of the unsaponifiable matter, the precipitation of the sterols with digitonine, the transformation of the latter into acetates and the recrystallization of the acetates in acetic anhydride.

### *Literatur*

- 1) Schweiz. Lebensmittelbuch, 4. rev. Auflage, Verlag Zimmermann & Cie. AG, Bern (1937), S. 79.
- 2) B. Kühn und J. Wewerinke, Z.U.L. **28**, 369 (1914).
- 3) Vgl. A. Beythien: Laboratoriumsbuch für den Nahrungsmittelchemiker, Verlag Theodor Steinkopft, Leipzig, S. 126 (1931).
- 4) A. Bömer, Z.U.L. **1**, 21 (1898).
- 5) H. Hadorn und R. Jungkunz, diese Mitt. **45**, 397 (1954).
- 6) H. Hadorn und R. Jungkunz, diese Mitt. **42**, 452 (1951).
- 7) L. Kofler, Mikrochemie **15**, 242 (1934).
- 8) A. Bömer, Z.U.L. **4**, 1070 (1901).
- 9) W. Arnold, Z.U.L. **10**, 238 (1905).
- 10) Klostermann, Z.U.L. **26**, 437 (1913).
- 11) Handbuch der Lebensmittelchemie, Verlag J. Springer, Berlin (1939), Bd. **4**, 251, Fussnote 7.
- 12) B. Kühn, F. Bengen und J. Wewerinke, Z.U.L. **29**, 326 (1915).