

Ueberprüfung einer neuen kolorimetrischen Benzoessäure-Bestimmung

Autor(en): **Hadorn, H. / Doevelaar, F.H.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **50 (1959)**

Heft 5

PDF erstellt am: **13.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983434>

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.

Ueberprüfung einer neuen kolorimetrischen Benzoessäure-Bestimmung

Von *H. Hadorn* und *F. H. Doevelaar*
(Laboratorium VSK Basel)

Einleitung

Spanyar, Kevei und *Kiszel*¹⁾ haben kürzlich eine Arbeit publiziert, betitelt «Ein neues einfaches Verfahren zur Bestimmung von Benzoessäure in Lebensmitteln». Die verschiedenen bisher in der Literatur beschriebenen Methoden sind meistens umständlich und liefern ungenaue und schlecht reproduzierbare Werte oder erfordern spezielle Apparate.

Das Prinzip des neuen Verfahrens ist kurz folgendes: Die Benzoessäure wird im Scheidetrichter mit Aether aus einer wässrigen Lösung des konservierten Lebensmittels ausgeschüttelt. Nach dem Abdestillieren des Aethers wird die isolierte Rohbenzoessäure mit «Nitriersäure» im siedenden Wasserbad nitriert. Die Nitrierungsprodukte werden mit Aether ausgeschüttelt, ausgewaschen und der Aether abgedunstet. Die gelben Nitroverbindungen werden in einem Gemisch von Aceton-Alkohol gelöst, mit Natronlauge versetzt und das Reaktionsgemisch in Eiswasser gestellt, worauf innert etwa 30 Minuten eine violette Färbung entsteht, deren Intensität im Photometer gemessen wird.

Vor einigen Jahren wurde in unserem Laboratorium eine einfache Methode zur Bestimmung der Benzoessäure in Konfitüren ausgearbeitet²⁾. Dabei wird die Benzoessäure aus einer wässrigen Lösung mit Chloroform in einem Perforator extrahiert und die erhaltene Rohbenzoessäure mit 0,02 n-Natronlauge titriert.

In dieser Arbeit sollte nun zunächst die neue Methode von *Spanyar* und Mitarbeitern überprüft werden. Wir hofften, durch eine Kombination unserer Methode mit der Farbreaktion nach *Spanyar, Kevi* und *Kiszel* die Benzoessäure-Bestimmung in Lebensmitteln noch empfindlicher und genauer zu gestalten. Besonders bei niedrigen Gehalten an Benzoessäure wäre eine empfindliche Farbreaktion zur quantitativen Bestimmung sehr erwünscht.

Die von *Spanyar* und Mitarbeitern beschriebene Farbreaktion ist eine Modifikation der von *Janovsky*³⁾ beschriebenen Reaktion. Sie ist nicht zu verwechseln mit der bekannten *Mohlerschen* Reaktion⁴⁾, die meistens zum qualitativen Nachweis der Benzoessäure verwendet wird. Die erste Stufe, d.h. die Nitrierung der Benzoessäure erfolgt nach beiden Methoden unter ganz ähnlichen Bedingungen. *Deshusses*⁵⁾ hat in einer sehr sorgfältigen Arbeit den ganzen Reaktionsablauf studiert. Aus dem Nitrierungsgemisch hat er als Hauptprodukt 3,5-Dinitrobenzoessäure isoliert. Daneben entstehen zum Teil in beträchtlichen Ausbeuten noch folgende Nebenprodukte, die *Deshusses* alle kristallisiert und durch Derivate charakterisiert hat: 2,5-Dinitrobenzoessäure, 2,6-Dinitrobenzoessäure,

m-Nitrobenzoesäure, 2,4,6-Trinitroresorcin. Von diesen 5 Verbindungen gibt nur die 2,5-Dinitrobenzoesäure die *Mohlersche* Reaktion (Rotfärbung mit Hydroxylamin-Chlorhydrat und Ammoniak).

Diese Reaktion ist leider für quantitative Bestimmungen nicht zu gebrauchen, weil die Färbung nicht stabil ist. Nach *Rosenthaler* und *Capuano* ⁶⁾ ist die *Mohlersche* Reaktion für Benzoesäure nicht spezifisch. Salicylsäure, Zimtsäure, Luminol geben unter den gleichen Bedingungen analoge Farbreaktionen.

Die von *Spanyar* und Mitarbeitern benutzte Farbreaktion (violette Färbung auf Zusatz von Natronlauge zu den in Aceton-Alkohol gelösten Nitrierungsprodukten) soll nach Versuchen obiger Autoren eine Reaktion der 3,5-Dinitrobenzoesäure sein, d.h. eine charakteristische Farbreaktion des bei der Nitrierung entstehenden Hauptproduktes.

Ueberprüfung der Methode von Spanyol, Kevei und Kizsel

Beim Arbeiten nach der Vorschrift von *Spanyar* und Mitarbeitern ergaben sich einige unerwartete Schwierigkeiten.

Isolierung der Benzoesäure

Zur Isolierung der Benzoesäure geben obige Autoren 5 verschiedene Vorschriften, je nach Art des Lebensmittels. Zuckerreiche Lebensmittel, wie Marmelade und Konfitüren werden mit der 4-fachen Menge gesättigter Kochsalzlösung vermischt, dann wird filtriert und in einem aliquoten Teil (entsprechend 10 g Konfitüre) die Benzoesäure mit Aether ausgeschüttelt. Bei unseren Versuchen entstanden stets lästige Emulsionen, die sich nicht trennen liessen. Die Angelegenheit wurde nicht weiter verfolgt, weil nach unserer früheren Arbeitsweise mittels Perforation mit Chloroform die Rohbenzoesäure elegant isoliert werden kann.

Nitrierung

Nitriert wurde stets mit dem von den Autoren empfohlenen Nitriergemisch (10 g Kaliumnitrat gelöst in 100 ml konz. Schwefelsäure) im Wasserbad. Nach 35 Minuten wurde das Nitriergemisch abgekühlt, vorschriftsgemäss mit Wasser verdünnt und im Scheidetrichter mit 30 ml Aether ausgeschüttelt. Dabei gehen nach *Spanyar* die Nitroverbindungen quantitativ in den Aether über. Die abgetrennte Aetherschicht wird nach Vorschrift erst mit 20 ml, dann mit 10 ml Wasser während 5 Minuten gewaschen. Wir beobachteten, dass dabei beträchtliche Mengen gelb gefärbter Nitroverbindungen in das Waschwasser gelangten. Verwendet man zum Auswaschen anstatt destilliertes Wasser verdünnte Schwefelsäure, so entstehen keine Verluste an gelb gefärbten Nitroverbindungen.

Prüfung der wasserlöslichen Nitroverbindungen: Da wir nach der Originalvorschrift ziemlich stark schwankende Werte erhielten, vermuteten wir, dass es sich bei den gelb gefärbten Nitroverbindungen, die ins Waschwasser gelangen, um Verluste an 3,5-Dinitrobenzoesäure handle.

Zur näheren Prüfung wurde eine grössere Menge (1,00 g) Benzoesäure mit 30 ml konz. Schwefelsäure und 3,0 g Kaliumnitrat im Wasserbad während 35 Minuten nitriert. Nach dem Abkühlen wurde mit 60 ml Wasser verdünnt und mit 120 ml Aether ausgeschüttelt. Die Aetherschicht wurde nun fraktionenweise mit Wasser ausgewaschen. Sämtliche Waschwässer waren intensiv gelb gefärbt. Sie wurden mit 50 %iger Schwefelsäure stark angesäuert und dann mit Aether ausgeschüttelt. Die gelben Substanzen gehen dabei quantitativ in den Aether.

Ueber die Waschwassermengen und die in den einzelnen Fraktionen gefundenen Substanzmengen gibt die Tabelle 1 Aufschluss. Keine der 4 wasserlöslichen Fraktionen gab mit Aceton-Alkohol und Natronlauge eine Violettfärbung. Es wurde lediglich eine Braunfärbung und die Ausflockung eines voluminösen braunen Niederschlages beobachtet. Durch das Auswaschen entstehen somit keine Verluste an Substanzen, die mittels der *Spanyar*-Reaktion erfasst werden.

Die durch viermaliges Ausschütteln von den wasserlöslichen Anteilen befreite Aetherlösung hinterliess nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels 1,29 g blassgelber Kristalle, die eine intensive *Spanyar*-Reaktion gaben.

Tabelle 1

Verluste an gelben Verbindungen beim Auswaschen mit Wasser

Fraktion Nr.	Waschwasser- menge ml	daraus gewonnene Substanzmenge mg	Aussehen
1	80	99	gelbes Harz und wenig Kristallnadeln
2	50	370	gelbes Harz
3	25	25	gelbes Harz
4	25	24	gelbes Harz

Farbreaktion

Aus der vorschriftsgemäss ausgewaschenen ätherischen Lösung der Nitroprodukte wurde der Aether abdestilliert und die als gelbe kristalline Masse zurückbleibenden Nitroprodukte in Aceton-Alkohol 1 : 1 gelöst und auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt. Ein aliquoter Teil wurde mit Aceton-Alkohol weiter verdünnt, so dass das Endvolumen nach dem Laugenzusatz (0,2 ml 5 %ige Natronlauge) stets 10,0 ml betrug. Nach dem Mischen wurde das Reaktionsgemisch sofort in Eiswasser gestellt. Die violette Farbe entwickelte sich nach kurzer Zeit. Nach Vorschrift soll die Extinktion frühestens nach 30 Minuten, spätestens nach 70 Minuten im *Pulfrich*-Photometer mit Filter S 57 bei 0,5 cm Schichtdicke gemessen werden. Wir benutzten ein *Beckman*-Spektralphotometer Modell B und Küvetten von 1 cm Schichtdicke. Das Absorptionsmaximum der Violettfärbung

färbung liegt bei 550 m μ . Wir haben beobachtet, dass das Maximum der Farb-Intensität nach 30 bis 40 Minuten meistens noch nicht erreicht ist.

Nachdem die Reaktionsmischung während 30 bis 40 Minuten in Eiswasser gestanden hatte, wurde sie in die Küvetten eingefüllt und die Extinktion gemessen. Die Intensität der Färbung nimmt in der Küvette meistens noch etwas zu, erreicht nach weiteren 4 bis 10 Minuten ein Maximum und nimmt dann ziemlich rasch wieder ab, wobei sich die Lösung trübt. Wenn man nun die Extinktion in Abständen von je einer Minute misst, lässt sich das Maximum, das selten länger als etwa während 2 Minuten einigermaßen konstant bleibt, genau erfassen. Die Werte sind dann gut reproduzierbar, wie das Beispiel in Tabelle 2 zeigt.

Tabelle 2
Zeitlicher Verlauf und Reproduzierbarkeit der Farbreaktion nach
Spanyar und Mitarbeitern

Versuch I		Versuch II	
photometriert nach Minuten	Extinktion $\lambda = 550 \text{ m}\mu$	photometriert nach Minuten	Extinktion $\lambda = 550 \text{ m}\mu$
39	1,015	37	1,076
41	1,062	38	1,118
42	1,112	40	1,147
43	1,142	41	1,152
44	1,160	42	1,148
46	1,162		
47	1,157		

Nach *Spanyar* und Mitarbeitern ist auch die Laugenmenge von Einfluss auf die Farbreaktion. Mit 0,3 bis 0,5 ml 5 %iger Natronlauge auf 15 ml Endlösung sollen praktisch die gleichen Werte erhalten werden. Bei einigen Versuchsserien haben wir die Laugenmenge pro 10 ml Endlösung von 0,2 auf 0,3 ml 5 %ige Natronlauge erhöht. Diese Versuche waren ganz unbefriedigend. Die Farbreaktion verläuft viel rascher und die Lösungen trübten sich oft schon während des Stehens in Eiswasser. Unmittelbar nach dem Einfüllen in die Küvetten sank die Farbintensität der Lösungen rasch ab. 0,2 ml 5 %ige Natronlauge in 10 ml Endlösung, wie sie *Spanyar* und Mitarbeiter empfehlen, sind somit optimal.

Die *Eichkurve* wurde zunächst in gleicher Weise aufgenommen, wie dies *Spanyar* und Mitarbeiter beschrieben. Eine gewogene Menge Benzoesäure wurde vorschriftsgemäss nitriert, die ausgewaschenen und getrockneten Nitrierungsprodukte in Alkohol-Aceton 1:1 gelöst und von dieser Stammlösung steigende

Mengen (entspr. 0,1 bis 0,6 mg Benzoesäure) abpipettiert, auf 9,8 ml verdünnt und die Farbreaktion mit 0,2 ml 5 %iger Natronlauge angestellt. Die Eichkurve verläuft linear und ist gut reproduzierbar.

Reproduzierbarkeit der Nitrierung

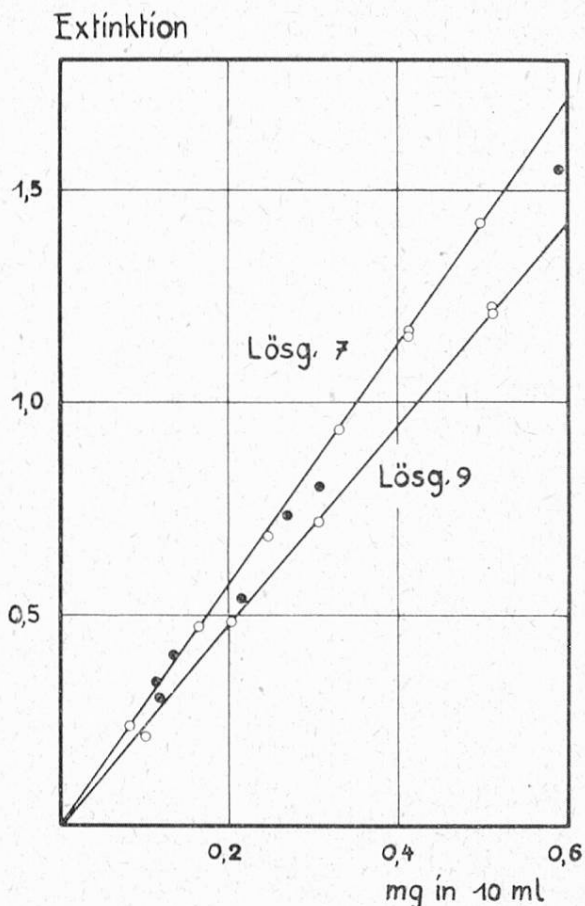
Nachdem bewiesen war, dass die Farbreaktion der Nitrierungsprodukte eines Ansatzes gut reproduzierbar ist, war noch die Frage abzuklären, ob auch die Nitrierung stets reproduzierbar verläuft. Es wurden daher wechselnde Mengen Benzoesäure (1,1 bis 51 mg) vorschriftsgemäss mit 5 ml Nitriergemisch (10 g Kaliumnitrat in 100 ml konz. Schwefelsäure) im siedenden Wasserbad während 35 Minuten nitriert und aufgearbeitet. Die Nitrierungsprodukte wurden in Alkohol-Aceton gelöst und auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt und von diesen Stammlösungen aliquote Teile für die Farbreaktion benützt.

Tabelle 3

Untersuchung der Abhängigkeit der Resultate von der Einwaage

Versuch Nr.	Einwaage mg Benzoesäure	Stammlösung ml	für Kolorimetrie verwendeter aliquoter Teil ml	Extinktion $\lambda = 550m\mu$	Benzoesäure gefunden in % der Einwaage
1	1,15	10	1	0,345	115,4 *
2	2,35	10	0,5	0,305	99,8
3	2,70	10	0,5	0,402	114,5 *
4	4,30	10	0,5	0,538	96,2 *
5	5,36	10	0,5	0,732	105,1
6	15,45	25	0,5	0,800	99,8
7	20,70	25	0,5	1,162	108,0 *
8	29,43	25	0,5	1,546	101,0
9	51,18	50	0,5	1,225	92,1

In Tabelle 3 sind die Resultate zusammengestellt. Die Werte sind nach steigender Einwaage geordnet. Zur Berechnung der kolorimetrisch gefundenen Benzoesäure wurde willkürlich eine mittlere Eichkurve benützt. Der Extinktion 1,00 entsprechen 0,385 mg Benzoesäure. Die Werte weichen zum Teil stark vom Sollwert ab (mittlere quadratische Abweichung $s = \pm 8,0 \%$). Irgend eine Gesetzmässigkeit oder eine Abhängigkeit von der Einwaage konnte nicht gefunden werden. Die mit * bezeichneten Proben wurde alle gleichzeitig im gleichen Wasserbad nitriert. Die übrigen 5 Proben bildeten eine andere Serie und wurden ebenfalls alle zusammen im gleichen Wasserbad nitriert. In beiden Serien findet man grosse Abweichungen nach oben und unten.



Figur 1. Eichkurven

In Fig. 1 sind zwei Eichkurven eingetragen, die mit verschiedenen Stammlösungen aus den Nitrierungsversuchen 7 und 9 erhalten worden sind. Man sieht, dass beide Kurven linear verlaufen, aber stark voneinander abweichen, woraus geschlossen werden muss, dass in den beiden Ansätzen die 3,5-Dinitrobenzoesäure, welche die Farbreaktion verursacht, nicht in gleicher Ausbeute entstanden ist.

In Fig. 1 sind noch 7 weitere Punkte (schwarze ausgefüllte Kreise) eingetragen, die mit den anderen Nitrierungsansätzen aus Tabelle 3 erhalten worden sind. Auch diese Punkte streuen ziemlich stark. Damit dürfte bewiesen sein, dass die grossen Streuungen, die man nach der Methode *Spanyar* erhält, nicht auf die eigentliche Farbreaktion zurückzuführen sind, sondern auf die Nitrierung der Benzoesäure, die nicht genau reproduzierbar verläuft. Nach *Deshusses*⁵⁾ entstehen verschiedene Nitrierungsprodukte nebeneinander, von denen nur die

3,5-Dinitrobenzoesäure die charakteristische Farbreaktion gibt. Vermutlich entstehen die verschiedenen Nitroverbindungen nicht immer genau im gleichen Verhältnis. Die Angaben von *Spanyar* und Mitarbeitern, wonach der mittlere Fehler bei Modellversuchen $\pm 0,9\%$ beträgt und bei den fünf verschiedenen Aufbereitungsverfahren für Lebensmittel zwischen ± 2 und $6,8\%$ liegt, konnten nicht bestätigt werden. Die Befunde obiger Autoren sind auch nicht zahlenmässig belegt. Die für die Modellversuche angegebene Fehlergrenze ($\pm 0,9\%$) stimmt nach eigenen Untersuchungen ausschliesslich für Versuchsserien, die aus einer Stammlösung eines einzigen Nitrierungsversuches erhalten werden.

Messung der Farbintensität der gelben Nitrierungsprodukte

Das aus der Benzoesäure bei der Nitrierung entstehende Gemisch von Nitroverbindungen ist intensiv gelb gefärbt. Es war daher naheliegend, anstatt eine umständliche und chemisch wenig übersichtliche Farbreaktion anzustellen, einfach die Extinktion der Summe der gelben Nitro-Verbindungen zu messen. Nach beendeter Nitrierung wurde das Reaktionsgemisch wie üblich mit 10 ml Wasser verdünnt und mit 30 ml Aether ausgeschüttelt. Da beim Auswaschen mit Wasser ein Teil der gelb gefärbten Verbindungen in das Waschwasser gelangt, wurde

bei diesen Versuchen mit verdünnter Schwefelsäure ausgewaschen, die keine gefärbten Stoffe aufnimmt. Aus der ätherischen Lösung lassen sich die gelben Verbindungen mit verdünnter Natronlauge, Soda- oder Natriumbikarbonatlösung quantitativ ausziehen.

Das Absorptionsmaximum der gelben Nitroprodukte, gelöst in 2 %iger Natriumbikarbonat-Lösung, liegt bei 360 $m\mu$. Wird mit 2 %iger Natronlauge ausgeschüttelt, beobachtet man 2 Absorptionsmaxima. Eines liegt im Ultraviolett, das andere bei 405 $m\mu$.

Die Färbung in 2 %iger Natronlauge nimmt langsam zu. Vermutlich findet in stark alkalischer Lösung eine Umsetzung oder Tautomerisierung statt. In Bikarbonatlösung bleibt die Färbung dagegen über 2 Stunden konstant. Es wurde daher in allen weiteren Versuchen mit 2 %iger Natriumbikarbonat-Lösung ausgeschüttelt. Beim Ausschütteln nimmt die Bikarbonatlösung etwas Aether auf. Als Folge davon können in den Küvetten beim Photometrieren lästige Schlieren oder Trübungen auftreten. Am einfachsten entfernt man den Aether, indem man die auf etwa 30° C erwärmte Lösung an der Wasserstrahlpumpe während einigen Minuten evakuiert. Dann wird in einem Messkölbchen oder graduiertem Gläschen auf das gewünschte Volumen aufgefüllt und photometriert. Die so bereiteten Lösungen gehorchen dem *Beerschen* Gesetz.

Mittels dieser vereinfachten kolorimetrischen Methode wurde nun der Nitrierungsvorgang der Benzoesäure nochmals überprüft.

Einfluss der Nitrierdauer

Um festzustellen, nach welcher Zeit ein Maximum für die gelben Nitroverbindungen erreicht wird, haben wir 30 mg Benzoesäure mit 30 ml Nitriergemisch in einem Erlenmeyerkölbchen in ein siedendes Wasserbad gestellt. In gewissen Zeitabständen wurden Proben von 1 ml herauspipettiert, mit Wasser verdünnt, mit 10 ml Aether ausgeschüttelt und die ätherlöslichen gelben Stoffe mit 10 ml 2 %iger Natriumbikarbonat-Lösung aufgenommen und darin die Extinktion bei 360 $m\mu$ gemessen.

Die Farbintensität nimmt bis zu 30 Minuten Nitrierdauer zu und bleibt dann noch wenigstens eine halbe Stunde praktisch konstant. Nach 3-stündiger Nitrierung ist bereits eine Abnahme der Farbintensität auf die Hälfte festzustellen, wie nachstehende Zahlen zeigen. Vermutlich werden die gelben Nitroverbindungen bei allzulanger Reaktion wieder zerstört (Oxydation).

Nitrierdauer	Extinktion bei 360 $m\mu$
10 Minuten	0,660
20 Minuten	0,929
30 Minuten	1,002
40 Minuten	1,001
60 Minuten	1,000
3 Stunden	0,552

Reproduzierbarkeit der Nitrierung

Um die Reproduzierbarkeit der Methode zu überprüfen, wurden in zahlreichen Versuchen verschiedene Mengen Benzoesäure mit je 5 ml Nitriergemisch während 40 Minuten im Wasserbad erhitzt. Die Proben wurden abgekühlt, mit 10 ml Wasser verdünnt und wie oben angegeben im Scheidetrichter ausgeschüttelt. Die gelb gefärbten Bikarbonatlösungen wurden mit 2%iger Bikarbonatlösung weiter verdünnt, so dass 10 ml Endlösung jeweils 0,5 mg Benzoesäure entsprachen. In Tabelle 4 sind die Resultate in Prozenten der Einwaage angegeben. Die Prozentgehalte wurden aus einer mittleren Eichkurve (Regressionsgeraden) aus zahlreichen Versuchen berechnet. Die gelben Nitrierungsprodukte von 1,00 mg Benzoesäure, gelöst in 10 ml Bikarbonatlösung, entsprechen einer mittleren Extinktion von 1,08. Bei allen Versuchen, auch solchen mit gleicher Einwaage, handelt es sich um voneinander unabhängige Parallelbestimmungen.

Tabelle 4

Modellversuche mit Nitrierung reiner Benzoesäure

Messung der gelben Nitroverbindungen in 2%iger Natriumbikarbonatlösung bei 360 m μ .

Einwaage mg	%	Einwaage mg	%	Einwaage mg	%
0,10	22,2	0,50	103,0	4,84	99,4
0,10	25,9	0,50	117,6	5,08	100,5
0,30	34,8	1,0	101,5	5,14	116,0
0,30	134,6	1,0	99,7	7,29	102,0
0,50	118,0	1,0	112,6	7,57	95,0
0,50	120,4	1,0	109,6	10,20	87,3
0,50	111,0	1,17	127,2	10,96	99,6
0,50	99,7	2,00	132,2	19,78	101,0
0,50	97,5	3,00	100,2	40,79	100,0

Die Werte streuen stark. Benzoesäuremengen unter 0,5 mg lassen sich überhaupt nicht mehr zuverlässig erfassen. Bei Einwaagen zwischen 1 und 40 mg verläuft die Nitrierung einigermaßen reproduzierbar, die Streuungen sind aber grösser (mittlere quadrat. Abweichung $s = \pm 11,7\%$) als bei der Methode von *Spanyar* und Mitarbeitern (s.Tab. 3). Für genaue quantitative Bestimmungen ist weder die eine noch die andere Reaktion zu gebrauchen.

Versuche an Konfitüre

Die beiden kolorimetrischen Methoden wurden nun an einer im Haushalt ohne Zusatz von Konservierungs- und Geliermitteln hergestellten Zwetschgenkonfitüre ausprobiert.

50—75 g Konfitüre wurden mit der doppelten Menge warmen Wassers verührt, die Masse im Mixer homogenisiert und durch eine 5-fache Lage von Verbandgaze unter schwachem Absaugen filtriert. Aliquote Teile des Filtrates (entsprechend 20 bis 30 g Konfitüre) wurden mit 0,5 ml konz. Phosphorsäure versetzt und im Perforator nach *Pritzker* und *Jungkunz* ⁷⁾ mit Chloroform während 2 bis 2½ Stunden perforiert. Eine Probe wurde ohne Benzoessäure-Zusatz verarbeitet, den beiden anderen wurden vor der Extraktion bekannte Mengen Benzoessäure zugesetzt.

Die Chloroform-Extrakte wurden gewogen, dann nitriert und die gelben Nitrierungsprodukte wie beschrieben ausgeäthert, dann in Natriumbikarbonat-Lösung aufgenommen und photometriert. Die Resultate sind in Tabelle 5 zusammengestellt.

Es wurde bereits früher ²⁾ darauf hingewiesen, dass man aus Konfitüren (sowie auch aus anderen Lebensmitteln) bei der Perforation des wässrigen Auszuges neben der Benzoessäure stets auch Verunreinigungen, meistens wachsartige Stoffe, extrahiert. Diese Verunreinigungen gaben bereits beim Blindversuch bei der Nitrierung gelbe wasserlösliche Verbindungen, die zu unserer Ueberraschung ebenfalls in den Aether gelangen und beim Ausschütteln von der Natriumbikarbonatlösung wiederum aufgenommen werden. Sie täuschen somit Benzoessäure vor. Die Gelbfärbung in Natriumbikarbonat ist daher für die Praxis völlig ungeeignet. In unserem Beispiel findet man in der Blindprobe einen scheinbaren Benzoessäuregehalt von 113 mg/kg Konfitüre. Auch in den beiden Versuchen mit Benzoessäure-Zusatz werden viel zu hohe Werte gefunden.

Tabelle 5
Modellversuche mit Konfitüre

	ohne Zusatz (Blindversuch)	mit Zusatz	mit Zusatz
Konfitüre im perforierten wässrigen Extrakt (Einwaage)	30 g	30 g	20 g
Benzoessäure zugesetzt	0	5,38 mg	9,55 mg
Rohbenzoessäure gewogen	7,0 mg	13,2 mg	19,7 mg
<i>Benzoessäure gefunden</i>			
a) ber. aus Gelbfärbung der Nitrierungsprod. in NaHCO ₃	3,4 mg	8,45 mg	12,0 mg
Ausbeute in % der Theorie	—	157 %	126 %
b) ber. aus Farbreaktion nach <i>Spanyar</i>	0	4,6 mg	8,6 mg
Ausbeute in % der Theorie	—	85 %	90 %

In einem aliquoten Teil der Nitroverbindungen wurde dann die Benzoesäure auch nach der Methode von *Spanyar* und Mitarbeitern bestimmt. Diese kolorimetrische Methode ist brauchbar, wenn auch nicht sehr genau. Die Verunreinigungen der Blindprobe täuschen keine Spur Benzoesäure vor, die zugesetzten Mengen findet man annähernd richtig wieder. Die Verluste von über 10 % lassen sich, wie mehrfach erwähnt, durch Schwankungen beim Nitrieren erklären.

Bei Serienuntersuchungen von normal konservierten Lebensmitteln erhält man in der Regel beträchtliche Mengen (über 10 mg) gut kristallisierter Rohbenzoesäure, die sich bequem titrimetrisch bestimmen lassen. Nach dieser Methode haben wir bei früheren Modellversuchen²⁾ recht befriedigende Resultate gefunden. In 8 Versuchen mit Konfitüren lagen die relativen Abweichungen vom Sollwert unter 4 %, in einem Versuch betrug der relative Fehler 10 %. (Mittlere quadratische Abweichung = 4,2 %).

Die Methode von *Spanyar* und Mitarbeitern kann gelegentlich wertvolle Dienste leisten, wenn man im Zweifel ist, ob die aus einem Lebensmittel isolierten, oft sehr geringen Mengen an schmierigen Stoffen («Rohbenzoesäure») überhaupt Benzoesäure enthalten. Die Farbreaktion soll nach *Spanyar* und Mitarbeitern für Benzoesäure recht spezifisch sein. Sie erlaubt eine annähernde, jedoch keineswegs genaue Bestimmung.

Zusammenfassung

1. Die kolorimetrische Benzoesäure-Bestimmung nach *Spanyar* und Mitarbeitern wurde überprüft. Die aus dem Lebensmittel isolierte Rohbenzoesäure wird zunächst nitriert. Die Nitroprodukte werden in Alkohol-Aceton gelöst und mit Natronlauge versetzt, worauf sich eine violette Färbung bildet, deren Intensität im Photometer gemessen wird.
2. Die Farbreaktion soll eine Reaktion der 3,5-Dinitrobenzoesäure sein. Bei der Nitrierung der Benzoesäure entsteht jedoch immer ein Gemisch verschiedener Nitroderivate.
3. Die eigentliche Farbreaktion (*Spanyar*-Reaktion) ist gut reproduzierbar und gehorcht dem Beerschen Gesetz. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass die Nitrierung der Benzoesäure schlecht reproduzierbar ist. Die Nitroprodukte verschiedener parallel durchgeführter Nitrierungen sind verschieden stark gelb gefärbt und geben auch stark voneinander abweichende Farbreaktionen mit Natronlauge in Aceton-Alkohol. Die Fehler betragen mehr als $\pm 10\%$.
4. Die Methode nach *Spanyar* und Mitarbeitern ist viel umständlicher und zeitraubender und keineswegs genauer als die von uns früher beschriebene Perforationsmethode mit anschließender acidimetrischer Titration der extrahierten Rohbenzoesäure.
5. Die Methode von *Spanyar* ist in Zweifelsfällen und bei sehr geringen Gehalten an Benzoesäure zur sicheren Identifizierung der nach einer beliebigen Methode isolierten Roh-Benzoesäure zu empfehlen.

Résumé

Le dosage colorimétrique de l'acide benzoïque selon *Spanyar* et ses collaborateurs a été examiné. Le principe de ce dosage est d'isoler l'acide benzoïque brut, de le nitrer, de dissoudre le produit nitré dans un mélange d'acétone et d'alcool et d'ajouter de la soude caustique; on obtient ainsi une coloration violette dont on mesure l'intensité au photomètre.

Les auteurs ont constaté que cette méthode est plus compliquée, plus longue et en aucun cas plus exacte que celle qu'ils ont décrite précédemment. Elle peut toutefois rendre des services dans des cas douteux et lorsque les teneurs en acide benzoïque sont très faibles.

Summary

Critical examination of the colorimetric determination of benzoic acid according to *Spanyar* et al.

The authors conclude that the method is more complicated, takes longer time and is not more accurate than their own one. However, the *Spanyar's* reaction is applicable for identification in uncertain cases or if the extraction residue is very impure.

Literatur

- ¹⁾ *P. Spanyar, E. Kevei* und *M. Kizsel*, Z.U.L. **107**, 118 (1958).
- ²⁾ *H. Hadorn*, diese Mitt. **42**, 226 (1951).
- ³⁾ *J. U. Janovsky*, Ber. deutsch. chem. Ges. **19**, 2155 (1958); **24**, 972 (1891).
- ⁴⁾ Schweiz. Lebensmittelbuch, 4. Aufl. S. 378 (1937).
- ⁵⁾ *J. Deshusses*, Pharm. Acta Helv. **21**, 183 (1946).
- ⁶⁾ *L. Rosenthaler* und *L. Capuano*, diese Mitt. **41**, 165 (1950).
- ⁷⁾ *J. Pritzker* und *R. Jungkunz*, Pharm. Acta Helv. 11/12, 223 (1939); diese Mitt. **30**, 262 (1939), diese Mitt. **34**, 185 (1943);
Abbildung einer verbesserten Ausführung vgl. diese Mitt. **42**, 232 (1951).

