

phenylphosphat als Substrat wird zur Bestimmung der gebildeten Phenolmengen die colorimetrische Bestimmung nach H. SCHARER¹ empfohlen. 0,5 ml einer Käsesuspension (20 g Käse werden mit Wasser verrieben und auf 100 ml aufgefüllt und 3 Tropfen Toluol sowie 3 Tropfen Octylalkohol zugegeben) werden auf 37° C erwärmt und mit 6,5 ml einer gleich temperierten Pufferlösung vermischt (2 g Dinatriumphosphat werden mit einem Borat-Natronlaugepuffer nach SÖRENSEN oder einem Veronal-Natriumacetat-Salzsäurepuffer nach MICHAELIS zu 1 Liter gelöst). Nach längerem Erwärmen (1—3 Std) im Wasserbad bei 37° C gibt man 1,5 ml 20% ige Trichloressigsäure zu und filtriert, nachdem umgeschüttelt wurde, nach 1/4 Std ab. Zu 1 ml des klaren Filtrats gibt man 1 ml einer frisch bereiteten Reagenslösung, die durch Auflösen von 10 mg 2,6-Dibromchinonchlorimid in 10 ml 95% igem Alkohol hergestellt wurde, und ferner 9,7 ml der Borat-Natronlaugepufferlösung und 0,3 ml 2,5% ige Natronlauge zu bis zum pH-Wert 9—9,5. Nach 15 min wird die Extinktion im Stufenphotometer (Filter S 61, 10 mm-Küvette) gegen eine Blindprobe gemessen. Als Erfassungsgrenze wird 10—50 µg Phenol in 1,5 ml Lösung, als günstigster Meßbereich 20—30 µg, als Fehlergrenze 1 µg angegeben. — β-Glycerophosphat dient als Substrat bei den Untersuchungen, in denen die Bestimmung des enzymatisch abgespaltenen Phosphats erforderlich ist. — *Arbeitsweise.* Zur Aufstellung einer Eichkurve werden 3 ml Phosphatlösung [4,3928 g KH₂PO₄ (p. a., bei 110° C getrocknet) mit Wasser zu 1 Liter gelöst. 1 ml entspricht 1 mg P; zum Gebrauch verdünnt man soweit, daß 1 ml 50 µg P enthält] in Schliffreagensgläsern nacheinander mit 5 ml Isobutanol-Benzollösung (1:1), 1 ml Silicowolframatreagens (2,45 g wasserfreies Natriumsilicat, 79,4 g Natriumwolframat und 15 ml konz. Schwefelsäure werden in 500 ml Wasser 5 Std am Rückflußkühler erhitzt mit Wasser auf 1 Liter ergänzt und filtriert) und 1 ml Ammoniummolybdatreagens (50 g Ammoniummolybdat werden in 400 ml 10 n Schwefelsäure gelöst und mit Wasser auf 1 Liter verdünnt) versetzt, geschüttelt und 2 ml der Isobutanol-Benzolschicht in einem Meßgläschen mit einem Gemisch von Schwefelsäure und Äthanol (20 ml konz. Schwefelsäure werden in 980 ml absol. Äthanol gelöst) auf 8 ml ergänzt. Nach Zugabe von 1 ml verd. Sn^{II}-Lösung (10 g SnCl₂ · 2H₂O werden in 25 ml konz. Salzsäure gelöst; bei Bedarf wird diese Grundlösung jeweils mit n Schwefelsäure im Verh. 1:100 verdünnt) füllt man mit der Mischung auf 10 ml auf und mißt nach 10 min die Farbintensität im Stufenphotometer (Filter S 66, 10 mm-Küvette) gegen einen Blindwert. Zur Untersuchung von Käse kamen 0,1 ml einer Käsesuspension zur Anwendung, die 1 g Käse in 6 ml Gesamtvolumen enthält und 2,9 ml einer 1% igen Lösung von Dinatrium-β-Glycerophosphat in Glykokoll-Natronlaugepuffer nach SÖRENSEN vom pH-Wert 9,6. Die Bebrütungsdauer wird über 2—5 Std hin empfohlen. Als Erfassungsgrenze dieser Methode wird 5—50 µg P, als Fehlergrenze ± 5% angegeben. Versuche mit Dinatrium-p-Nitrophenylphosphat und Tetranatriumphenolphthaleindiphosphat führten zu keinem befriedigenden Ergebnis, die beiden Substrate können daher nicht empfohlen werden.

DORIS HEILIGMANN

Zur Bestimmung von Fett in weichem Käse modifizieren A. PINSKY und A. GRÜNPETER² die Methode nach H. VAN GULIK³, indem sie zur vollständigen Lösung der Proteinbestandteile Schwefelsäure vom spezifischen Gewicht 1,70 anwenden an Stelle der von VAN GULIK empfohlenen Säure mit der Dichte D = 1,50. Vergleichende Versuche mit dem gravimetrischen Verfahren nach SCHEID-BONDZYSKI-RATZLAFF ergaben eine gute Übereinstimmung. DORIS HEILIGMANN

¹ J. Dairy Sci. **21**, 21 (1938); vgl. diese Z. **117**, 218 (1939).

² Analyst (London) **78**, 621—622 (1953). Agricult. Res. Station, Rehovot (Israel).

³ Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **23**, 99 (1912).