

327. Karl Heinrich Slotta und Klaus Neisser: Zur Chemie des Kaffees, II. Mittel: Eine neue Methode zur Bestimmung des Trigonellins.

[Aus d. Forschungsabteil. d. Kaffee-Institutes, S. Paulo, Brasilien, Instituto Butantan.]
(Eingegangen am 11. August 1938.)

In einer vorhergehenden Arbeit¹⁾ beschrieben wir eine neue Methode zur Bestimmung der Chlorogensäure im Roh- und Röstkaffee sowie im Kaffeegetränk, die es uns dank ihrer großen Empfindlichkeit erlaubt, von nur 2 g Kaffee (oder einer entsprechenden Menge Getränk) auszugehen. Natürlich waren wir bestrebt, möglichst in derselben kleinen Substanzmenge noch weitere Stoffe zu erfassen, für die es bisher noch keine einfache, analytische Bestimmungsmethode gibt. In erster Linie galt unser Interesse dem Trigonellin, dem wichtigsten Alkaloid des Kaffees nächst dem Coffein.

Die Anwesenheit des Trigonellins im Kaffee ist seit langem bekannt²⁾, wenn auch die eindeutige Identifizierung mit synthetisch hergestelltem Trigonellin erst vor ein paar Jahren gelang³⁾. Über die Menge des im Kaffee enthaltenen Trigonellins sind erstmalig von F. E. Nottbohm und F. Mayer⁴⁾⁵⁾ quantitative Angaben gemacht worden. Die von diesen Autoren ausgearbeitete Bestimmungsmethode für Trigonellin kann jedoch nicht befriedigen. Für unseren Analysengang war sie schon deshalb nicht brauchbar, weil man zu ihrer Durchführung von 20 g Kaffee ausgehen muß. Überdies kommt sie für Reihenversuche, die von uns in erster Linie angestrebt wurden, wegen ihrer Langwierigkeit und wegen der Notwendigkeit, stets Vergleichsversuche mit reinem Trigonellin anzustellen, nicht in Frage.

Nach den Analysen von Nottbohm und Mayer⁵⁾ hatte man mit etwa 0.4% Trigonellin im Rohkaffee zu rechnen. In unserer Probe von 2 g waren also 8 mg Trigonellin zu erwarten. Es galt demnach hier in noch höherem Maße als im Falle der Chlorogensäure, eine Mikromethode zu finden, die noch so kleine Mengen Trigonellin zu erfassen imstande ist.

Im Zusammenhang mit unseren Untersuchungen über die Oxydation aromatischer und heterocyclischer Substanzen mit Hypojodit⁶⁾ fanden wir nun, daß auch Trigonellin sich mit Jod in alkalischer Lösung titrieren läßt. Es verbraucht dabei pro Mol. genau 10 Atome Jod.

Diese neue Methode übertrifft unsere Anforderungen an die Genauigkeit noch ganz erheblich: es gelingt, noch Mengen von nur 2 mg hinreichend genau zu erfassen (Vers. 1). Damit war die Grundlage gegeben, im Verlaufe unseres Analysenganges, ausgehend von 2 g Kaffee, auch das Trigonellin mit Hilfe der genauesten und einfachsten aller Titrations-, der Jodtitration, zu bestimmen.

Es war nun nur noch die Aufgabe zu lösen, aus dem Kaffee das Trigonellin in möglichst reiner Lösung, frei von Begleitstoffen zu erhalten. Auch dies gelang uns schließlich. Bei der Ausfällung der Chlorogensäure mittels Bleiacetats bleibt das Trigonellin in Lösung. Diese Lösung ist nach der Entfernung des Bleis durch Schwefelwasserstoff bei Rohkaffee fast farblos, bei Röstkaffee und Getränk schwach gelb gefärbt. Sie enthält außer dem Tri-

1) K. H. Slotta u. Kl. Neisser, B. **71**, 1616 [1938].

2) s. u. a. K. Gorter, A. **372**, 239 [1910].

3) A. Heiduschka u. R. Brüchner, Journ. prakt. Chem. [2] **130**, 11 [1931].

4) Ztschr. Unters. Lebensmittel **61**, 202 [1931].

5) Ztschr. Unters. Lebensmittel **63**, 47 [1932].

6) K. H. Slotta u. Kl. Neisser, B. **71**, 1984 [1938].

gonellin noch sehr wenig Cholin (nach F. E. Nottbohm und F. Mayer⁷⁾ etwa 0.02%) und Zucker. Man kann nun in einem aliquoten Teil der Lösung die Jodtitration durchführen, dann in einem anderen Teil der Lösung die reduzierenden Zucker nach Bertrand bestimmen und aus der Differenz den Trigonellin-Gehalt berechnen (Vers. 2). Jedoch haften dieser Methode die Unsicherheiten jeder Differenzmethode an, so daß wir uns nach einer Methode zur direkten Abscheidung des Trigonellins umsahen.

Auch dieses Problem wurde schließlich gelöst. Wir stellten nämlich fest, daß sich das Trigonellin sehr gut durch Fällung mit Phosphorwolframsäure abscheiden läßt. Selbst in den sehr verdünnten Lösungen, wie wir sie im Laufe unseres Analysenganges erhalten, gelingt das, wenn man dabei die folgenden Dinge beachtet: 1) Das Trigonellin fällt mit Phosphorwolframsäure nur in saurer Lösung. 2) Der Niederschlag wird nur filtrierbar, wenn man die Lösung in der Kälte mit Phosphorwolframsäure versetzt, dann bis zur klaren Lösung erhitzt und ganz langsam, zuletzt im Eisschrank, abkühlen läßt. 3) Die Trigonellin-Phosphorwolframsäure-Verbindung ist auch in saurer Lösung nicht vollständig unlöslich; in dem von uns angewandten Volumen von 110 ccm bleibt eine Menge der Verbindung in Lösung, die 1.0 mg Trigonellin entspricht (Vers. 3). Dieser empirische Faktor ist zu der gefundenen Trigonellinmenge hinzuzuzählen.

Unter Anwendung der Fällung mit Phosphorwolframsäure gestaltet sich nun unser Verfahren zur Bestimmung des Trigonellins im Kaffee außerordentlich einfach und genau. Die vom Blei befreite Lösung wird angesäuert und mit Phosphorwolframsäure in der beschriebenen Weise gefällt. Dann wird der Niederschlag filtriert und mit verd. Natronlauge vom Filter gelöst. Zu dieser alkalischen Lösung gibt man eine gemessene Menge Jodlösung, läßt 1 Stde. stehen, säuert an und titriert den Jodüberschuß mit Thiosulfat zurück. Wir überzeugten uns davon, daß die Anwesenheit der Phosphorwolframsäure in der Lösung die Jodtitration des Trigonellins nicht beeinflußt (Vers. 3).

Seit Ausarbeitung der Methode haben wir bereits Dutzende von Analysen durchgeführt; ohne eine einzige Ausnahme stimmten Analyse und Kontrolle innerhalb weniger hundertstel Prozente überein. Mit Hilfe dieser überaus einfachen, im Laufe eines Arbeitstages von ungeschulten Laboranten durchführbaren Methode ist es nun erstmalig möglich geworden, eine große Anzahl von Kaffee-Proben auf ihren wahren Gehalt an Trigonellin zu untersuchen. Über diese Ergebnisse werden wir demnächst berichten⁸⁾. Es sei nur vorweggenommen, daß der Gehalt an Trigonellin im Rohkaffee viel größer ist, als man bisher angenommen hatte: im Durchschnitt 1%! Bei der Röstung wird das Trigonellin weitgehend zerstört, so daß im Röstkaffee durchschnittlich nur noch 0.5% Trigonellin enthalten sind. Unsere Analysen haben ferner ergeben, daß der von F. E. Nottbohm und F. Mayer⁹⁾ eingeführte Begriff der „Alkaloidzahl“, d. i. das Verhältnis von Coffein zu Trigonellin, einer gründlichen Revision bedarf, da diese Zahl auf Grund von unrichtigen Trigonellin-Bestimmungen errechnet wurde.

⁷⁾ Ztschr. Unters. Lebensmittel **63**, 176 [1932].

⁸⁾ Die Ergebnisse dieser Arbeit und weitere analytische Untersuchungen werden ausführlicher in den *Memorias do Instituto Butantan*, Tomo XII, 1938, veröffentlicht werden.

⁹⁾ Ztschr. Unters. Lebensmittel **61**, 429 [1931].

Beschreibung der Versuche.

Versuch 1: Titration von Trigonellin-hydrochlorid mit Jod in alkalischer Lösung.

Berechnung der gefundenen Werte auf der Grundlage eines Verbrauches von 10 Atomen Jod pro Mol. Trigonellin-hydrochlorid.

Gegeben	10.7	10.7	10.7	10.7	4.27	4.27	} mg Trigonellin-hydrochlorid
Gefunden	10.0	10.4	10.3	10.4	4.17	4.09	
Gegeben	11.4	10.7	4.05	2.14	2.14		} mg Trigonellin-hydrochlorid
Gefunden	10.8	10.5	4.02	2.08	2.09		

Versuch 2: Indirekte Bestimmung des Trigonellin-hydrochlorides in Gegenwart von Glucose.

Die Glucose wurde nach Bertrand bestimmt. Die Titration der Mischung mittels Jods in alkalischer Lösung ergab den Wert für die Summe: Jodverbrauch der Glucose (2 Atome pro Mol.) + Jodverbrauch des Trigonellins (10 Atome pro Mol.). Daraus wurden die Werte für das Trigonellin errechnet.

	Trigonellin-hydrochlorid		Glucose	
	Gegeben	Gefunden	Gegeben	Gefunden
Synthetische Mischung	6.98 mg	6.66 mg	5.40 mg	5.57 mg
Synthetische Mischung	6.98 mg	7.02 mg	5.40 mg	5.38 mg
Extrakt eines Rohkaffees		1.21 %		1.00 %
Extrakt eines Rohkaffees		1.18 %		1.00 %
Extrakt eines Rohkaffees		1.20 %		1.09 %
Extrakt eines Rohkaffees		1.13 %		1.08 %

Versuch 3: Bestimmung des Trigonellins durch Fällung mit Phosphorwolframsäure und Titration mit Jod.

Die genau eingewogene Menge Trigonellin-hydrochlorid wurde in 100 ccm Wasser gelöst und dann nach der unter 5. beschriebenen Vorschrift behandelt.

Trigonellin-hydrochlorid		
Gegeben	Gefunden	Differenz
7.8 mg	6.55 mg	1.25 mg
10.1 mg	8.5 mg	1.6 mg
20.4 mg	19.1 mg	1.3 mg
15.0 mg	13.9 mg	1.1 mg
9.8 mg	8.53 mg	1.27 mg
		Mittel: 1.30 mg

Es bleiben also durchschnittlich 1.30 mg Trigonellin-hydrochlorid, entsprechend 1.00 mg Trigonellin, bei der Fällung mit Phosphorwolframsäure in Lösung und entgehen daher der Jodtitration. Dieser empirische Faktor wird stets zu den gefundenen Mengen hinzugezählt.

Zur Kontrolle wurden 2 Proben desselben Kaffees analysiert, zu deren einer man vorher 2.27 mg Trigonellin-hydrochlorid, entsprechend 1.80 mg Trigonellin, hinzugefügt hatte. Die Analyse ergab 8.97 bzw. 10.67 mg Trigonellin. Die Differenz von 1.70 mg steht in bester Übereinstimmung mit der zugewogenen Menge.

Versuch 4: Beispiele von Ergebnissen, die mittels der neuen Methode zur Bestimmung des Trigonellins erhalten wurden.

Typ des Kaffees	Analysen			
	1	2	3	4
Brasil roh	0.97	0.98	0.99	1.01%
Franca roh	1.23	1.18	1.17	1.22%
Franca geröstet	0.59	0.60	0.59%	
Costa Rica roh	1.03	1.03	1.02%	
Java geröstet	0.33	0.32	0.33%	

Versuch 5: Vorschrift zur Bestimmung des Trigonellins im Roh- und Röstkaffee sowie im Kaffeegetränk.

Die vereinigten dekantierten Flüssigkeiten von der Bleifällung der Chlorogensäure¹⁰⁾ werden in einem Becherglas auf offener Flamme zum Sieden erhitzt und gleichzeitig während $\frac{1}{2}$ Stde. ein Strom von Schwefelwasserstoff durchgeleitet. Man sieht zu, daß nach Beendigung dieser Operation das Volumen der Flüssigkeit etwa 150 ccm beträgt. Nach dem Durchleiten des Schwefelwasserstoffs wird noch eine Weile gekocht, um die letzten Reste Schwefelwasserstoff zu verjagen. Dann wird noch heiß in einen 200 ccm Meßkolben filtriert. Man wäscht das Filter mehrfach aus und füllt nach dem Erkalten den Meßkolben bis zur Marke auf. Nun nimmt man genau 100 ccm ab und gibt sie in einen weithalsigen Erlenmeyer von 200 ccm. Man setzt 10 ccm 2-n. Schwefelsäure und 40 Tropfen einer 10-proz. Lösung von Phosphorwolframsäure zu. Die trübe Lösung wird bis gerade zum Sieden erhitzt. Dann läßt man langsam abkühlen, zuletzt im Eisschrank. Nun filtriert man durch ein mit 0.5-n. Schwefelsäure befeuchtetes Filter, wobei man darauf achtet, möglichst wenig von dem Niederschlag mit auf das Filter zu bringen. Nun wird 2-mal mit je 5 ccm 0.5-n. Schwefelsäure gewaschen, wobei wiederum möglichst wenig von dem Niederschlag auf das Filter gelangen soll. Alsdann setzt man den Analysentrichter auf das Gefäß, in dem sich die Hauptmenge des Niederschlages befindet. Man gibt auf das Filter 10 ccm 1-n. Natronlauge in 2 Portionen, wodurch der darauf befindliche Teil des Niederschlages restlos vom Filter gelöst wird. Man wäscht das Filter mehrfach mit kaltem Wasser, bringt durch Umschütteln auch den Niederschlag im Kolben in Lösung und bestimmt in der so erhaltenen klaren Lösung das Trigonellin jodometrisch.

Man setzt der Lösung 20 ccm 0.05-n. Jodlösung zu, bedeckt mit einem Uhrglas und läßt nach Umschütteln 1 Stde. im Dunkeln stehen. Dann säuert man mit etwa 7 ccm 2-n. Schwefelsäure an und titriert mit 0.05-n. Thiosulfatlösung, wobei man gegen Ende Stärke zusetzt.

Berechnung: In bekannter Weise ermittelt man die Anzahl der verbrauchten ccm genau 0.05-n. Jodlösung. Multipliziert man diese Zahl mit 0.69, so erhält man die Anzahl mg, die in den 100 ccm Lösung (= 1.0 g Kaffee) enthalten sind. Nun wird zu dieser Zahl 1.00 mg addiert, denn diese Menge bleibt in den benützten Flüssigkeitsvolumina in Lösung und entgeht deshalb der Titration.

Beispiel: Es wurden 20 ccm einer Jodlösung vom Faktor 1.020 zugegeben, dies entspricht 20.40 ccm genau 0.05-n. Jodlösung. Der Verbrauch an Thiosulfat (genau 0.05-n.) betrug 9.58 ccm. Der Jodverbrauch der Lösung war also 10.82 ccm. Dies, mit 0.69 multipliziert, ergibt 7.46 mg Trigonellin. Hierzu wird 1.00 mg addiert, Ergebnis also 8.46 mg oder 0.85%. Wenn der verwendete Kaffee 11.2% Feuchtigkeit enthielt, muß noch durch $(100 - 11.2) = 88.8$ dividiert werden. Ergebnis: 0.96% Trigonellin im Trockenkaffee.

¹⁰⁾ B. 71, 1621 [1938].