Zeitschrift

für

Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel, sowie der Gebrauchsgegenstände.

Heft 1.

1. Januar 1911.

21. Band

Beiträge zur Bestimmung der Ameisensäure in Nahrungsmitteln¹⁾.

Von

Heinrich Fincke.

Mitteilung aus der Nahrungsmittel-Untersuchungsanstalt der Stadt Cöln.

[Eingegangen am 15. Oktober 1910.]

1. Allgemeines.

Die Methoden zur Bestimmung der Ameisensäure beruhen mit einer Ausnahme auf der Anwendung von Oxydationsmitteln, wobei die Menge der Ameisensäure entweder aus dem Verbräuche an Oxydationsmitteln oder aus der Menge eines Reaktionsproduktes erschlossen wird. Es ist klar, daß bei den in der Nahrungsmittelchemie herrschenden Verhältnissen, wo man die vorhandenen Stoffe häufig nur zum Teil und mangelhaft kennt, derartige Methoden mit der größten Vorsicht anzuwenden sind.

Die Methode von Wegner, welche auf einer Zersetzung der Ameisensäure mit Schwefelsäure und gasvolumetrischer Bestimmung des dabei entstehenden Kohlenoxyds beruht, sucht diesen Fehlermöglichkeiten zu entgehen, doch ist auch sie nicht ganz einwandfrei. Neuerdings ist die Methode von Röhrig²⁾ nachgeprüft und für die Bestimmung selbst geringer Mengen Ameisensäure in Fruchtsäften als anwendbar befunden worden. Abgesehen von der als etwaige Fehlerquelle berücksichtigten Milchsäure erscheint es theoretisch nicht ausgeschlossen, daß auch Cyanwasserstoff — z. B. bei Kirschsafft — einen Fehler bedingen könnte, da auch Cyanide beim Erhitzen mit konzentrierter Schwefelsäure Kohlenoxyd entwickeln. Allerdings würde Cyanwasserstoff auf Grund der Tatsache, daß seine Alkalisalze durch Kohlensäure zerlegt werden, leicht von Ameisensäure zu trennen sein. Die unten angegebene Art der Trennung der Ameisensäure von Aldehyden würde selbst bei Anwesenheit erheblicher Mengen von Cyanwasserstoff eine Trennung von der Ameisensäure gestatten.

Von den Oxydationsmethoden zur Bestimmung der Ameisensäure ist diejenige mit Quecksilberchlorid die beste. Zwar reagieren noch eine Anzahl anderer Stoffe außer Ameisensäure mit Quecksilberchlorid; so ist die Behauptung von Smith³⁾, daß Aldehyde ohne Einwirkung seien, irrig. Immerhin sind die Mängel der Quecksilberchloridmethode

¹⁾ Nach Fertigstellung vorliegender Untersuchungen erschien eine Arbeit von Loock: „Konservierungsmittel in Fruchtsäften unter besonderer Berücksichtigung des Nachweises der Ameisensäure“ (Zeitschr. öffentl. Chem. 1910, 16, 350), in welcher ebenfalls auf Fehlerquellen des Ameisensäurenachweises aufmerksam gemacht wird. Auf diese Arbeit sei hier nur verwiesen.

²⁾ Diese Zeitschrift 1910, 19, 1.

³⁾ Journ. Amer. Chem. Soc. 1907, 29, 1236; diese Zeitschrift 1908, 15, 239.

geringer als die anderer Oxydationsmethoden, z. B. der Kaliumpermanganatmethode, und beim Vorliegen reiner Ameisensäure ist ihre Ausführung so einfach und die Genauigkeit so groß, daß der Versuch lohnend erscheinen mußte, die Fehlerquellen der Methode nach Möglichkeit auszuschalten. Bei der Bearbeitung dieser Frage ergab sich die Notwendigkeit, die Trennung der Ameisensäure von den Nahrungsmitteln mit in den Bereich der Untersuchung zu ziehen.

Von den Arbeiten der letzten Jahre, welche sich mit der Bestimmung der Ameisensäure mittels Quecksilberchlorids beschäftigen, verdienen die Arbeiten von Auerbach und Plüddemann¹⁾ besondere Beachtung. Diese haben die alte, mit Fehlern behaftete maßanalytische Methode zu einer genauen ausgearbeitet und dabei festgestellt, unter welchen Bedingungen die Reduktion von Quecksilberchlorid zu Quecksilberchlorür durch Ameisensäure quantitativ erfolgt, sodaß damit auch für die gewichtsanalytische Bestimmung eine sichere Grundlage gegeben war. Auerbach und Plüddemann arbeiteten ferner eine Methode aus, um Ameisensäure und Formaldehyd nebeneinander bequem bestimmen zu können. Hierbei gewonnene Resultate konnten bei der Ausarbeitung der Bestimmung von Ameisensäure neben anderen ebenfalls Quecksilberchlorid reduzierenden Stoffen verwertet werden.

In vorliegender Arbeit wurde zunächst die maßanalytische Art der Ameisensäurebestimmung der genannten Forscher nachgeprüft; die Ergebnisse waren recht befriedigend. Wenn es sich um eine größere Anzahl und um häufiger wiederkehrende Reihen von Bestimmungen handelt, so ist diese Bestimmungsart als die schnellere vorzuziehen. Sind jedoch Ameisensäurebestimmungen nur in geringerer Zahl und seltener auszuführen, so ist die gewichtsanalytische Bestimmung, welche keine genau eingestellten Lösungen erfordert, die zweckmäßigere. Bei ganz geringen Mengen von Ameisensäure (unter 5 mg) gebe ich ihr ebenfalls den Vorzug. In der unten angegebenen Form ist die Bestimmung durch Wägung des Quecksilberchlorürs durchaus genau und einfach.

Die Schwierigkeit der Ameisensäurebestimmung in Nahrungsmitteln liegt in der Vorbereitung zur Bestimmung, in der möglichst vollständigen Trennung der Ameisensäure von anderen Stoffen, beziehungsweise in deren Unschädlichmachung. Der Reinheit der anzuwendenden Reagenzien ist besondere Aufmerksamkeit zu schenken; Essigsäure ist sehr häufig ameisensäurehaltig²⁾. Es zeigte sich, daß die Flüchtigkeit der Ameisensäure mit Wasserdämpfen verhältnismäßig gering ist. Eine sehr gefährliche Fehlerquelle besteht ferner darin, daß bei der Wasserdampfdestillation angesäuerter stark konzentrierter Zuckerlösungen Ameisensäure als Zersetzungsprodukt des Zuckers entsteht. Ferner wirken viele Aldehyde, schweflige Säure und Salicylsäure störend; erstere bilden ebenfalls Quecksilberchlorür, Salicylsäure gibt eine unlösliche Quecksilberverbindung. Die genannten Fehlerquellen glaube ich durch die angegebenen Arbeitsverfahren praktisch unschädlich gemacht zu haben. Es erscheint aber durchaus nicht ausgeschlossen, daß auch noch durch andere Stoffe Schwierigkeiten und Irrtümer entstehen können; in zweifelhaften Fällen ist daher durch in geeigneter Weise angestellte Kontrollproben festzustellen, ob das anzuwendende Verfahren einwandfrei ist. In der vorliegenden Arbeit konnten die angegebenen Verfahren zunächst hauptsächlich nur theoretisch behandelt (d. h. mit den reinen Reagenzien ausprobiert) und nur auf wenige praktische

¹⁾ Arbeiten a. d. Kais. Gesundheitsamte, 1909, 80, 178 u. 195.

²⁾ Vergl. Fincke, Apotheker-Ztg. 1910, 25, 727.

Fälle ausgedehnt werden; sie bedürfen daher noch einer eingehenden praktischen Durchprüfung.

2. Maßanalytische Bestimmung der Ameisensäure.

Die Bestimmung der Ameisensäure nach Auerbach und Plüddemann¹⁾ ist eine verbesserte Form der Bestimmungsmethode von Portes und Ruysen. Sie beruht darauf, daß man die ameisensäurehaltige Flüssigkeit mit einer abgemessenen Menge Quecksilberchloridlösung von bekanntem Gehalte erhitzt und den Überschuß an Quecksilberchlorid in der vom Quecksilberchlorür abfiltrierten Lösung titrimetrisch mit Jodkalium bestimmt. Auerbach und Plüddemann ermittelten die Bedingungen, unter denen die Reduktion des Quecksilberchlorids quantitativ erfolgt; wesentlich sind hierbei Art und Dauer des Erhitzens und der Zusatz von Acetaten, um die Acidität, die infolge Bildung von Salzsäure

ohne Acetatzusatz eine erhebliche und die Genauigkeit der Analyse schädigende GröÙe erreichen würde, herabzudrücken. Ferner studierten die genannten Forscher eingehend die bei der Titration von Quecksilberchlorid gegen Jodkalium obwaltenden Verhältnisse. Titriert man eine Quecksilberchloridlösung in Jodkaliumlösung, so bildet sich zunächst das lösliche farblose Doppelsalz $\text{HgJ}_2 \cdot 2 \text{KJ}$ und erst wenn kein Kaliumjodid mehr zur Bildung dieses Doppelsalzes zur Verfügung steht, tritt eine bleibende Fällung von rotem Quecksilberjodid ein. Diese Ausscheidung erfolgt nun aber etwas früher als theoretisch zu erwarten ist, und hierin lag die Hauptfehlerquelle des alten maßanalytischen Verfahrens. Da die Abweichung aber nur von der Konzentration abhängig und sonst durchaus gleichmäßig ist, läßt sie sich durch eine empirisch ermittelte Korrektortabelle, deren Richtigkeit sich auch theoretisch erweisen ließ, ausschalten. Diese Tabelle wurde derart ausgearbeitet, daß die Faktoren sich auf die Anzahl Kubikzentimeter Quecksilberchloridlösung beziehen, die zur Titration von 2 ccm einer annähernd 1,25-normalen Kaliumjodidlösung verbraucht werden.

Tabelle I.

v = ccm HgCl_2 -Lösung, die bis zur beginnenden Rötung verbraucht sind.

f = Faktor, mit dem v zu multiplizieren ist, um die dem angewendeten Jodkalium äquivalente Menge HgCl_2 -Lösung zu finden.

v	f	v	f	v	f	v	f
20	1,036	35	1,052	50	1,069	65	1,084
25	1,042	40	1,058	55	1,074	70	1,090
30	1,047	45	1,063	60	1,079	75	1,095

Man bedarf folgender Lösungen:

1. Quecksilberchloridlösung von genau bekanntem Gehalte. Zweckmäßig löst man 58,87 g HgCl_2 mit Natriumchlorid zu 1000 ccm. 1 ccm entspricht dann 5,0 mg Ameisensäure.

2. Kaliumjodidlösung 20,7 g zu 100 ccm. Es ist reinstes Kaliumjodid anzuwenden, dessen Reinheit von Bromid und Chlorid durch Titration einer gewogenen Menge mit Silberlösung festzustellen ist. Zum Abmessen der Jodkaliumlösung, von welcher für jede Analyse 2 ccm gebraucht werden, benutzt man stets dieselbe 2 ccm-

¹⁾ Diese Zeitschrift 1909, 17, 425.

Pipette. Durch Auswägen derselben mit Wasser oder durch Titration von 2 ccm (oder einem Mehrfachen) Jodkaliumlösung, die mit dieser Pipette abgemessen sind, mittels $\frac{1}{10}$ N.-Silbernitratlösung stellt man das Ameisensäureäquivalent derselben fest. Sind für 2 ccm Jodkaliumlösung n ccm $\frac{1}{10}$ N.-Silberlösung verbraucht, so ist das in mg ausgedrückte Äquivalent $= \frac{n \cdot 0,1 \cdot 46,015}{2}$.

Die Ausführung der Analyse geschieht in folgender Weise:

„Die zu untersuchende Lösung wird, falls sie sauer oder alkalisch reagiert, neutralisiert und erforderlichenfalls in diesem Zustande auf ein kleines Volum eingedampft. Dann bringt man sie unter Zusatz von mindestens 3 g Natriumacetat in ein langhalsiges 100 ccm-Kölbchen und fügt eine genau abgemessene Menge der Quecksilberchloridlösung hinzu, und zwar soviel als dem vermuteten Ameisensäuregehalt, zuzüglich 20—70 mg (möglichst 30—50 mg) Ameisensäure, entspricht. Das Kölbchen, das nicht ganz gefüllt sein darf, wird bis an den Hals in ein siedendes Wasserbad gestellt, zwei Stunden darin belassen, dann abgekühlt und mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Nach gutem Durchmischen des Kolbeninhalts filtriert man durch ein trockenes Faltenfilterchen in ein trockenes Kölbchen, wobei die ersten Anteile des Filtrates wegen etwaiger Konzentrationsänderungen durch Adsorption am Filtrierpapier verworfen werden. Das Filtrat füllt man in eine Bürette und titriert damit in 2 ccm der 1,25-normalen Kaliumjodidlösung — unter Vermeidung einer Verdünnung durch Spülwasser — bis zum ersten Auftreten einer rötlichen Trübung.“

Sind v ccm des Filtrates zur Titration verbraucht worden, so liest man aus der Korrektionsstabelle den zugehörigen Korrektionsfaktor f ab; dann sind $f \cdot v$ ccm des Filtrates dem angewendeten Kaliumjodid äquivalent. Bedeutet j das in mg HCOOH ausgedrückte Ameisensäureäquivalent der 2 ccm Kaliumjodidlösung, so entspricht der Quecksilberüberschuß in den gesamten 100 ccm $\frac{j \cdot 100}{f \cdot v}$ mg Ameisensäure. Ist h das in mg HCOOH ausgedrückte Ameisensäureäquivalent der angewendeten ccm-Zahl der Quecksilberchloridlösung, so enthält die untersuchte Probe $\left(h - \frac{j \cdot 100}{f \cdot v} \right)$ mg HCOOH oder eine äquivalente Menge Formiat.“

Die Methode wurde durch eine Reihe von Analysen nachgeprüft und einwandfrei befunden. Zur Nachprüfung diente Ameisensäure „Kahlbaum“, deren Ameisensäuregehalt acidimetrisch festgestellt wurde und Natriumformiat „Kahlbaum“. Der Gehalt des letzteren wurde auf Grund von zwei Natriumbestimmungen (als Sulfat), die 33,16 bzw. 33,21% Natrium ergaben und einer Wasserbestimmung (Trocknen über P_2O_5), die 1,81% Feuchtigkeit ergab, zu 98,2% angenommen.

Angewendete Lösungen:

1. Quecksilberchloridlösung: 58,87 g Quecksilberchlorid und 15 g Natriumchlorid zu 1000 ccm. 1 ccm entspricht 5,0 mg Ameisensäure.
2. Kaliumjodidlösung: 20,7 g Kaliumjodid zu 100 ccm. 2 ccm verbrauchten 25,61 ccm $\frac{1}{10}$ N.-Silbernitratlösung. 2 ccm entsprechen 14,73 mg Ameisensäure.
3. Ameisensäurelösung: 10 ccm Ameisensäure zu 1000 ccm. 100 ccm verbrauchten 26,05 ccm Normallauge. 10 ccm enthalten 119,9 mg Ameisensäure.
4. Natriumformiatlösung: 7,390 g Natriumformiat zu 1000 ccm. 10 ccm enthalten 49,1 mg Ameisensäure.

Die Ergebnisse der Ameisensäurebestimmungen waren folgende:

Tabelle II.

Angewendete Ameisensäure- bzw. Formiat- lösung	Zusatz von Quecksilber- chlorid- lösung ccm	Zur Titration von 2 ccm Jodkalium- lösung ver- brauchte Lösung ccm	Faktor	Ameisensäure	
				ange- wendet mg	gefunden mg
10 ccm Natriumformiatlösung (verd. 1:10)	6,0	54,65	1,074	4,9	4,9
5 ccm Ameisensäurelösung (verd. 1:10)	15,0	20,50	1,036	6,0	5,7
10 ccm „ („ „)	10,0	36,15	1,053	12,0	11,3
5 ccm Natriumformiatlösung	12,0	39,10	1,057	24,5	24,4
10 ccm „	15,0	54,00	1,073	49,1	49,6
10 ccm „	20,0	27,90	1,045	49,1	49,5
10 ccm „	20,0	27,73	1,045	49,1	49,2
5 ccm Ameisensäurelösung	20,0	34,70	1,052	60,0	59,7
20 ccm Natriumformiatlösung	30,0	27,90	1,045	98,2	99,5
10 ccm Ameisensäurelösung	35,0	26,25	1,043	119,9	121,2
10 ccm „	35,0	25,90	1,043	119,9	120,5
10 ccm „	30,0	46,85	1,065	119,9	120,5

3. Gewichtsanalytische Bestimmung der Ameisensäure.

Die im folgenden angegebene Bestimmungsweise enthält nichts wesentlich Neues, sondern fußt auf den Erfahrungen früherer Bearbeiter. Zum Teil wurden Ergebnisse der Arbeit von Auerbach und Plüddemann verwertet; die Anwendung des Gooch-Tiegels statt des gewogenen Filters zum Sammeln des Quecksilberchlorürs wurde schon von G. Greve¹⁾ empfohlen. Bei den einander zum Teil widersprechenden Angaben in der Literatur über die Dauer des Erhitzens und die Größe der Zusätze von Natriumacetat und Quecksilberchlorid konnte man bisher über die zweckmäßigste Art der Ausführung der Analyse im Zweifel sein. Eine große Anzahl von Beleganalysen, bei denen die angewendete Konzentration angegeben ist, zeigt, daß das hier beschriebene Verfahren sichere Resultate ergibt.

Die Bestimmung geschieht in folgender Weise: Die neutrale oder schwach saure Lösung der Ameisensäure, deren Volumen bei geringen Mengen (höchstens bis 100 mg) 50 bis 100 ccm, bei größeren Mengen (etwa über 50 mg) 100 bis 300 ccm betragen soll, wird mit 3 bis 5 g Natriumacetat und einem mindestens das 15-fache der Ameisensäuremenge betragenden Gewichte Quecksilberchlorid versetzt und in einem Erlenmeyer-Kolben, auf den mittels Gummistopfen ein etwa 30 bis 40 cm langes Glasrohr als Rückflußkühler aufgesetzt ist, zwei Stunden im siedenden Wasser- oder im Dampfbade erhitzt, derart, daß der Kolben wenigstens so weit, als er Flüssigkeit enthält, vom Dampf umspült wird.

Das Volumen der Flüssigkeit kann — ohne daß die Genauigkeit Schaden leidet — in ziemlich weiten Grenzen schwanken; bei ganz geringen Ameisensäuremengen wählt man es natürlich möglichst klein. Das Quecksilberchlorid ist nicht in fester Form, sondern in Lösung zuzusetzen, welche man zweckmäßig durch Lösen von 100 g Quecksilberchlorid und 30 g Natriumchlorid zu 1 Liter herstellt. Das Natriumacetat, dessen Menge bei sehr geringen Ameisensäuremengen erniedrigt werden kann und nur dann

¹⁾ Chem.-Ztg. 1909, 33, 51.

über 3 g erhöht werden muß, wenn mehr als 125 mg Ameisensäure vorhanden sind, kann dagegen in fester Form zugegeben werden. Das Erhitzen des Erlenmeyer-Kolbens erfolgt am besten derart, daß man einen oder zwei engere Ringe des Wasserbades über ihn streift und ihn dann mittels Stativ und Klammer so in das Bad einhängt, daß die übergestreiften Ringe mit den übrigen Ringen des Bades eine schließende Fläche bilden; es befindet sich dann wohl der untere, nicht aber der obere Teil des Kolbens im Dampf.

Das ausgeschiedene Quecksilberchlorür — ein Erkalten des Reaktionsgemisches braucht nicht abgewartet zu werden — wird in einem mit Asbestfüllung versehenen Gooch-Tiegel abgesaugt und mit warmem Wasser und zuletzt mit Alkohol und Äther gut ausgewaschen. Man trocknet den Niederschlag darauf $\frac{3}{4}$ bis 1 Stunde im Wasserbadtrockenschrank (95—100° C) und wägt nach dem Erkalten. Durch Multiplikation mit 0,0977 ergibt sich die Ameisensäuremenge.

Bei der Bestimmung reiner Ameisensäure ist das ausgeschiedene Quecksilberchlorür weiß; Färbung weist auf Verunreinigungen hin.

Zur Kontrolle der Methode dienten die bei dem maßanalytischen Verfahren angegebenen Lösungen von Ameisensäure und Natriumformiat „Kahlbaum“. Bei einigen Bestimmungen wurde eine Lösung bezw. eine abgewogene Menge von über Phosphor-pentoxyd getrocknetem und als 100%-ig angenommenen Natriumformiat verwendet. Das gewichtsanalytische Verfahren gelangte auch bei allen anderen Ameisensäurebestimmungen dieser Arbeit zur Anwendung.

Tabelle III.

Form der angewendeten Ameisensäure	Zusatz von Natriumacetat	Zusatz von Quecksilberchlorid	Volumen der Flüssigkeit	Gewogenes Quecksilberchlorür	Ameisensäure	
					angewendet	gefunden
	g	g	ccm	g	mg	mg
Freie Säure	3,0	1,0	50	0,0620	6,0	6,1
"	3,0	1,0	50	0,1223	12,0	11,9
"	3,0	1,5	75	0,6177	60,0	60,3
"	3,0	1,5	50	1,2347	119,9	120,6
"	3,0	1,8	50	1,2357	119,9	120,7
"	3,0	1,8	50	1,2379	119,9	120,9
"	5,0	2,0	100	1,2303	119,9	120,2
"	5,0	2,0	50	1,2391	119,9	121,3
"	3,0	2,0	150	1,2316	119,9	120,3
"	5,0	3,0	250	1,2327	119,9	120,4
Natriumsalz	3,0	1,0	50	0,0219	2,5	2,1
"	3,0	2,0	150	0,4102	40,2	40,1
"	3,0	1,0	100	0,5065	49,1	49,4
"	3,0	2,0	100	0,8057	78,2	78,7
"	3,0	2,0	150	0,8291	80,5	81,0
"	3,0	5,0	130	0,8282	80,5	80,9
"	5,0	2,0	100	1,0066	98,2	98,3
"	3,0	1,5	50	1,2681	122,8	123,9
"	4,0	3,0	150	1,6535	160,9	161,5
"	10,0	4,0	200	2,5228	245,5	246,5
"	5,0	3,5	300	2,5156	245,5	245,8

4. Versuche über die Flüchtigkeit der Ameisensäure mit Wasserdampf.

Die Tatsache, daß von einigen Autoren 200 bis 400 ccm¹⁾, von anderen 1000 bis 1500 ccm²⁾ Wasserdampfdestillat zur völligen Abscheidung der Ameisensäure aus Nahrungsmitteln für notwendig gehalten werden, veranlaßte zu Versuchen, die eine verhältnismäßig geringe Flüchtigkeit der Ameisensäure ergaben.

Soll in Form von Salzen vorhandene Ameisensäure bestimmt werden, so ist zum Ansäuern keine Mineralsäure, sondern eine organische nichtflüchtige Säure, z. B. Weinsteinsäure, zu nehmen, um Zersetzungen organischer Stoffe nach Möglichkeit zu vermeiden. Die Menge der angewandten Säure muß so groß sein, daß auch andere neben der Ameisensäure vorhandene Salze flüchtiger organischer Säuren zersetzt werden; dies ist besonders bei der Gegenwart von Acetaten, Benzoaten und Salicylaten zu berücksichtigen, da die Ameisensäure als verhältnismäßig starke Säure nur dann völlig übergeht, wenn auch die anderen flüchtigen organischen Säuren ausgetrieben werden.

Die Destillationsversuche wurden in der Weise vorgenommen, daß aus kohlen säurefreiem Wasser entwickelter Dampf mittels einfachen Einleitungsrohres durch die in einem Kolben befindliche 100 ccm betragende Ameisensäurelösung geleitet und im Liebig'schen Kühler verdichtet wurde. Durch geringes Erhitzen des Kolbens wurde das Niveau der Flüssigkeit möglichst auf gleicher Höhe gehalten. Das Destillat wurde in Fraktionen zu 200 ccm aufgefangen und hierin die Säure acidimetrisch bestimmt. Es wurde teils ein kurzhalsiger (Tab. IV, No. 3, 4, 7, 8), teils ein langhalsiger Kolben (Tab. IV, No. 1, 2, 5, 6) benutzt; hierbei zeigte sich kein wesentlicher Unterschied. Dagegen trat eine nicht unerhebliche Beschleunigung der Destillation ein, wenn durch Zusatz von Zucker die Temperatur der ameisensäurehaltigen Flüssigkeit erhöht wurde. Ein Versuch zeigte, daß Ameisensäure wesentlich schwerer mit Wasserdampf übergeht als Essigsäure. Bei verschiedenen großen Ameisensäuremengen, wobei allerdings keine extremen Fälle berücksichtigt wurden, sind die in gleichen Fraktionen übergegangenen Mengen, wenn man sie in Prozenten der gesamten angewendeten Menge berechnet, nicht wesentlich verschieden. Geringe Fehler waren bei diesen Versuchen nicht zu vermeiden, da die Stärke des Wasserdampfstromes und die Flüssigkeitsmenge im Kolben während der Versuche nicht ganz gleichmäßig gehalten werden konnten; derartige Fehler waren aber für den vorliegenden Zweck belanglos.

Das Hauptergebnis der Versuche ist dieses, daß zur annähernd vollständigen Entfernung der Ameisensäure aus einer wässrigen Flüssigkeit mittels nicht überhitzten Wasserdampfes unter ähnlichen wie den hier angewendeten Bedingungen etwa 1500 ccm Destillat und bei Flüssigkeiten mit etwas höherem Siedepunkt (stärkere Zuckerlösungen) 1000 bis 1200 ccm Destillat erzeugt werden müssen. Die Menge der in den einzelnen Fraktionen übergehenden Ameisensäure (in Prozenten der angewendeten Menge) ist aus Tabelle IV zu ersehen. Es ist bei dieser Tabelle zu berücksichtigen, daß die in der letzten Rubrik angeführte „im Destillat gefundene Säuremenge“ bei No. 1 in 1600 ccm, bei No. 5 in 600 ccm und bei den übrigen Versuchen in 1000 ccm gefunden wurde.

¹⁾ Schwarz und Weber, diese Zeitschrift 1909, 17, 195. — Röhrig, diese Zeitschrift 1910, 19, 3.

²⁾ Farnsteiner, diese Zeitschrift 1908, 15, 601. — Merl, diese Zeitschrift, 1908, 16, 388.

Tabelle IV.

No.	Zusammensetzung der der Wasserdampfdestillation unterworfenen Lösung	Stärke der zur Titration gebrauchten Normal- mallauge	Verbrauch der einzelnen Fraktionen (zu 200 cem) und des Rückstandes an cem $\frac{1}{10}$ oder $\frac{1}{4}$ N.-Lauge zur Neutralisation								Angewendete Säuremenge g	Im Destillat gefundene Säuremenge
			Gefundene Säuremenge in Procenten der angewendeten Menge									
			1. Fraktion	2. Fraktion	3. Fraktion	4. Fraktion	5. Fraktion	6. Fraktion	7. Fraktion	8. Fraktion		
1	0,277 g Ameisensäure, Wasser zu 100 cem	$\frac{1}{10}$	29,60 $\frac{49,29}{25,70}\%$	15,45 $\frac{25,70}{12,50}\%$	7,55 $\frac{12,50}{6,00}\%$	3,60 $\frac{6,00}{2,60}\%$	1,55 $\frac{2,60}{1,50}\%$	0,90 $\frac{1,50}{0,90}\%$	0,55 $\frac{0,90}{0,50}\%$	0,30 $\frac{0,50}{0,30}\%$	0,274 g $\frac{98,9}{95,0}\%$	
2	0,139 g Ameisensäure, Wasser zu 100 cem	$\frac{1}{10}$	13,95 $\frac{46,29}{24,30}\%$	7,35 $\frac{24,30}{12,90}\%$	3,90 $\frac{12,90}{7,50}\%$	2,25 $\frac{7,50}{4,00}\%$	1,20 $\frac{4,00}{3,10}\%$	—	—	—	0,132 g $\frac{95,0}{96,3}\%$	
3	0,240 g Ameisensäure, Wasser zu 100 cem	$\frac{1}{4}$	10,15 $\frac{48,69}{26,80}\%$	5,60 $\frac{26,80}{12,00}\%$	2,50 $\frac{12,00}{5,80}\%$	1,20 $\frac{5,80}{3,10}\%$	0,65 $\frac{3,10}{2,10}\%$	—	—	—	0,231 g $\frac{96,3}{96,3}\%$	
4	0,060 g Ameisensäure, Wasser zu 100 cem	$\frac{1}{10}$	6,40 $\frac{49,10}{25,30}\%$	3,30 $\frac{25,30}{12,30}\%$	1,60 $\frac{12,30}{6,90}\%$	0,90 $\frac{6,90}{3,10}\%$	0,40 $\frac{3,10}{2,10}\%$	—	—	—	0,068 g $\frac{96,7}{96,7}\%$	
5	0,193 g Essigsäure, Wasser zu 100 cem	$\frac{1}{10}$	22,60 $\frac{70,30}{21,00}\%$	6,75 $\frac{21,00}{5,90}\%$	1,90 $\frac{5,90}{1,90}\%$	—	—	—	—	0,85 $\frac{2,60}{2,60}\%$	0,193 g $\frac{97,4}{97,4}\%$	
6	0,139 g Ameisensäure, 50 g Rohrzucker, Wasser zu 100 cem	$\frac{1}{10}$	17,20 $\frac{56,90}{27,00}\%$	8,15 $\frac{27,00}{9,90}\%$	3,00 $\frac{9,90}{3,00}\%$	0,90 $\frac{3,00}{1,30}\%$	0,40 $\frac{1,30}{1,30}\%$	—	—	—	0,136 g $\frac{97,9}{97,9}\%$	
7	0,1478 g Natriumformiat, 2 g Weinsäure, Wasser zu 100 cem	$\frac{1}{10}$	9,25 $\frac{43,40}{23,90}\%$	5,10 $\frac{23,90}{14,10}\%$	3,00 $\frac{14,10}{8,20}\%$	1,75 $\frac{8,20}{4,90}\%$	1,05 $\frac{4,90}{3,50}\%$	—	—	—	0,0927 g $\frac{94,4}{94,4}\%$	
8	0,1478 g Natriumformiat, 2 g Weinsäure, 50 g Rohrzucker, Wasser zu 100 cem	$\frac{1}{10}$	15,40 $\frac{72,29}{19,70}\%$	4,20 $\frac{19,70}{6,10}\%$	1,30 $\frac{6,10}{2,60}\%$	0,55 $\frac{2,60}{1,60}\%$	0,35 $\frac{1,60}{1,60}\%$	—	—	—	0,1005 g ¹⁾ $\frac{102,4}{102,4}\%$	

¹⁾ Der Überschuß erklärt sich durch Bildung flüchtiger Säuren infolge Karamelisierung des Rohrzuckers.

5. Bestimmung der Ameisensäure bei Gegenwart von Aldehyden.

Die Reaktionsfähigkeit mit Quecksilberchlorid kommt, wie bereits erwähnt, einer Anzahl von Aldehyden zu, von denen wenigstens einige in Nahrungsmitteln vorkommen können. So wird Quecksilberchlorid durch Formaldehyd, Acetaldehyd, Salicylaldehyd, Vanillin und Furfurol reduziert; von den ebenfalls reduzierenden Aldosen kann hier abgesehen werden, da sie nicht flüchtig sind. Eine Trennung der Ameisensäure von Aldehyden, überhaupt von allen nichtsauren Stoffen, auch von Cyanwasserstoff läßt sich dadurch erzielen, daß man den Wasserdampf, welcher die von Ameisensäure zu befreiende Flüssigkeit passiert hat, in geeigneter Weise durch eine im Sieden gehaltene Anschwemmung von Erdalkalicarbonat schickt. Die Ameisensäure wird alsdann bis auf einen sehr geringen Verlust zurückgehalten, während die nichtsauren flüchtigen Stoffe, so die Aldehyde, vom Wasserdampf mit hindurchgenommen werden. Die Anwendung einer Alkalilösung verbietet sich, weil dadurch Aldehyde in Form von Aldehydharz zurückgehalten und vielleicht auch Formaldehyd zu Methylalkohol und Ameisensäure zersetzt werden könnte. Der Verlust an Ameisensäure, der bei Anwendung von 5—10 mg etwa 0,5 mg beträgt und beim Durchdestillieren von 100 mg auf 2 mg steigt, kann besonders bei gerichtlichen Fällen leicht in den Kauf genommen werden, wenn dafür größere Sicherheit vorhanden ist, daß die gefundenen Werte wirklich nur von Ameisensäure herrühren.

Eine Bestimmung von Ameisensäure und Formaldehyd nebeneinander ist von Auerbach und Plüddemann¹⁾ ausgearbeitet worden. Das Verfahren beruht darauf, daß zunächst der Formaldehyd nach der Wasserstoffsuperoxydmethode bestimmt wird; hierbei geht, wenn man unter geeigneten Bedingungen arbeitet, der Formaldehyd quantitativ in Ameisensäure über. In derselben Lösung wird alsdann die Gesamtameisensäuremenge nach dem maßanalytischen Verfahren bestimmt. Durch Abzug der aus dem Formaldehyd entstandenen und berechneten Ameisensäure ergibt sich die Menge der ursprünglich vorhandenen Ameisensäure. Dieses Verfahren kommt in Betracht, wenn Ameisensäure und Formaldehyd nebeneinander in nicht zu geringen Mengen vorliegen, andere Aldehyde jedoch fehlen. In der Nahrungsmittelchemie werden diese Bedingungen häufig nicht erfüllt sein, sei es, daß es sich nur um geringe Mengen Formaldehyd handelt, die auf diese Weise nicht bestimmbar sind, sei es, daß das gleichzeitige Vorliegen anderer Aldehyde nicht ausgeschlossen ist. In solchen Fällen wird die hier angegebene Methode, welche Fehler durch Aldehyde ausschließt, gute Dienste leisten können.

Es wurde versucht, die von Auerbach und Plüddemann angegebene Methode der Oxydation von Formaldehyd mit Wasserstoffsuperoxyd zur Zerstörung anderer Aldehyde zu benutzen, doch war der Erfolg nicht zufriedenstellend.

Zu der „Durchdestillations-Methode“, wie das unten angegebene Verfahren hier kurz genannt sein mag, ist zu bemerken, daß im allgemeinen ein durch Sieden bewirktes Eindampfen des auf übliche Weise erhaltenen Destillates unter Zusatz von Erdalkalicarbonat, dem auch in diesem Falle vor Ätzalkali der Vorzug gebührt, ebenso zum Ziele führen wird, indem auch dann nichtsaure Stoffe verflüchtigt werden. Dieses Verfahren schien mir aber weniger sicher zu sein, weil schwerer flüchtige Stoffe doch zurückbleiben könnten; es führt außerdem langsamer zum Ziele, da bei der Durchdestillation das Eindampfen einer großen Flüssigkeitsmenge fortfällt.

Die Ausführung der Durchdestillation geschah in folgender Weise:

¹⁾ Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte, 1909, 30, 205.

An den Dampfentwickler wurde ein Kolben mit fast bis auf den Boden desselben reichendem Dampfableitungsrohr und sicher wirkendem Destillationsaufsatz geschaltet. In diesem Kolben, dessen Flüssigkeitshöhe während des Versuches durch geringes Erhitzen möglichst gleichmäßig gehalten wurde, befand sich die von Ameisensäure zu befreiende Flüssigkeit. Der durch den Aufsatz dieses Kolbens durchgegangene und mit den flüchtigen Stoffen beladene Dampf wurde dann in einen zweiten senkrecht stehenden langhalsigen Kolben geleitet, der die Aufschwemmung des Erdalkalicarbonates enthielt. Das hierzu benutzte Dampfableitungsrohr war jedoch nicht — wie bei dem ersten Kolben — ein einfaches unten verengtes Rohr, sondern ein unten zugeschmolzenes Rohr, welches dicht um das untere Ende, in einer zum Rohr senkrecht stehenden Ebene angeordnet, vier gebogene Röhrchen mit feiner Öffnung besaß, wie es von Stoltzenberg¹⁾ zuerst für Dampfableitungsrohre vorgeschlagen ist. Hierdurch wird eine sehr feine Dampfverteilung, die ja im vorliegenden Falle sehr wichtig ist, und ein gleichmäßiges Aufrühren des in der Flüssigkeit befindlichen Niederschlages erzielt. An den zweiten Kolben schloß sich dann der Liebig'sche Kühler an. Auch der Inhalt des zweiten Kolbens wurde durch eine kleine Flamme soweit im Sieden gehalten, daß sein Flüssigkeitsvolumen gleich blieb. Nachdem die gewünschte Menge Destillat erzielt war, wurde der Inhalt des zweiten Kolbens filtriert, der Rückstand mit heißem Wasser ausgewaschen und in dem nötigenfalls etwas eingedampften Filtrat die Ameisensäure auf übliche Weise bestimmt.

Mit dieser Einrichtung wurde eine Reihe von Versuchen angestellt, die beweisen, daß die Entfernung selbst größerer Mengen von Aldehyden eine vollständige und der Verlust an Ameisensäure nur gering ist. Der Einfachheit halber sei hier der erste, die ameisensäurehaltige Flüssigkeit enthaltende Kolben als Kolben a, der zweite, die Carbonataufschwemmung enthaltende Kolben als Kolben b bezeichnet.

Versuch 1. Während Kolben b mit 1 g Calciumcarbonat und 100 ccm Wasser beschickt war, wurden in den Kolben a in einem Falle 0,2 ccm Formalin (40%-ig), in einem zweiten Falle 1,0 ccm Formalin und 100 ccm Wasser gegeben und jedesmal 1000 ccm Wasser durchdestilliert. In beiden Fällen reduzierte die vom Calciumcarbonat abfiltrierte Flüssigkeit (kurz das „Kalkfiltrat“) Quecksilberchlorid nicht. Hierdurch wurde zugleich der Beweis erbracht, daß unter diesen Verhältnissen Formaldehyd nicht, wie es durch Ätzalkali in der Hitze geschieht, zu Methylalkohol und Ameisensäure zersetzt wird.

Versuch 2. In analoger Weise gab das Kalkfiltrat bei Anwendung von 0,2 ccm Furfuröl keine Quecksilberchloridreduktion.

Versuch 3. In gleicher Weise wurden 0,3 ccm Acetaldehyd der Destillation unterworfen; es wurden zunächst 500 ccm Destillat erzeugt. Das Kalkfiltrat gab eine 1,5 mg Ameisensäure entsprechende Ausscheidung von Quecksilberchlorür. Bei einer Wiederholung und Durchdestillation von 1000 ccm wurde dasselbe Resultat erhalten. Dieses war sehr auffällig, da doch mindestens eine Abnahme der Reduktion hätte eintreten müssen, falls sie von dem Aldehyd herrührte, und ließ den Verdacht aufsteigen, daß das Präparat mit einer reduzierenden Säure verunreinigt sei. Dieses bestätigte sich auch, denn als bei einer nochmaligen Wiederholung des Versuches auch in den Kolben a zu der Mischung von Acetaldehyd und Wasser etwas Calciumcarbonat zugesetzt und dann 1000 ccm durchdestilliert waren, gab das Kalkfiltrat des Kolbens b keine Reduktion mehr, während das Filtrat aus Kolben a Quecksilberchlorid in entsprechendem Maße reduzierte. Die reduzierende Substanz war also eine im Acetaldehyd vorhandene Säure, vermutlich Ameisensäure.

¹⁾ Chem.-Ztg. 1908, 32, 770.

Nach den Ergebnissen dieser Versuche ist anzunehmen, daß auch andere Aldehyde bei dieser Art der Ameisensäuretrennung keine Fehler bedingen können.

Nunmehr wurden Versuche darüber angestellt, wie weit Ameisensäure durch die Erdalkalicarbonataufschwemmung wirklich zurückgehalten wird. Es wurden verschiedene Ameisensäuremengen der Durchdestillation unterworfen und dabei teils nur die im Destillat enthaltene, also durch die Carbonataufschwemmung durchgegangene Ameisensäure, teils außerdem die von derselben zurückgehaltene Ameisensäure, wie sie zur Bestimmung gelangt, und in einem Falle noch die im Kolben a zurückgebliebene, nicht übergegangene Ameisensäure bestimmt. Die Flüssigkeiten wurden — so weit nötig, wie beim Destillat — zur Ameisensäurebestimmung auf ein kleines Volumen eingedampft. Bei sämtlichen Destillationsversuchen war die angewendete Ameisensäure jedesmal in 100 ccm Wasser gelöst worden. Die Ergebnisse sind in folgender Tabelle enthalten:

Tabelle V.

No	Zusammensetzung der Anschwemmung zur Zurückhaltung der Ameisensäure	Gewonnenes Destillat	Angewendete Ameisensäure	Gefundene Ameisensäure		
				im Kalkfiltrat	im Destillat (durchgegangenen)	im Kolben a (zurückgeblieben)
		ccm	mg	mg	mg	mg
1	2 g Bariumcarbonat	1000 ccm Wasser	98,2	—	0,9	—
2	2 g Calciumcarbonat		119,9	—	1,1	—
3	1 g Magnesiumoxyd		98,2	—	2,2	—
4	2 g Calciumcarbonat		98,2	—	0,7	—
5	1 g „		6,0	5,6	0,6	—
6	1 g „		12,0	10,9	0,5	—
7	2 g „		119,9	116,9	2,3	1,0

Diese Versuche zeigen, daß der Verlust an Ameisensäure durch diese Trennungsmethode nicht sehr erheblich ist und daß das Verfahren daher in Fällen, in denen Fehler durch Aldehyde sicher ausgeschlossen werden müssen, anwendbar ist. Wie weit es wirklich notwendig ist, dies Verfahren anzuwenden, muß sich in der Praxis ergeben.

Es sei noch folgender Versuch über die Bestimmung von Ameisensäure neben Formaldehyd in Butter erwähnt: Zunächst wurden 50 g Butter mit 1 g Weinsäure und 75 ccm Wasser der Wasserdampfdestillation unterworfen und durch eine Aufschwemmung von 1 g Calciumcarbonat mit 100 ccm Wasser 1000 ccm durchdestilliert. Das Kalkfiltrat gab gar keine Quecksilberchloridreduktion. Der Versuch wurde in gleicher Weise wiederholt, dabei aber der Butter 49,1 mg Ameisensäure als Natriumsalz und 0,2 ccm Formalin zugegeben. Nach Durchdestillation von 1000 ccm gab das Kalkfiltrat 0,4630 g Quecksilberchlorür, entsprechend 45,2 mg Ameisensäure. Bei einer nochmaligen Wiederholung mit gleichen Zusätzen und Durchdestillation von 1500 ccm Wasser wurden 0,4886 g Quecksilberchlorür erhalten, die 47,7 mg Ameisensäure entsprachen. Bei Erzeugung von 1000 ccm Destillat betrug der Verlust somit 3,9 mg, bei 1500 ccm Destillat 1,4 mg.

6. Bestimmung der Ameisensäure in Zuckerlösungen.

Bei der Bestimmung von Ameisensäure in zuckerhaltigen Flüssigkeiten ist zu berücksichtigen, daß Zuckerarten, z. B. Invertzucker, Maltose, Galactose (auch Dextrin)

Quecksilberchlorid reduzieren; es ist daher in diesen Fällen bei der Wasserdampfdestillation durch Anwendung eines guten Destillationsaufsatzes besondere Sorge dafür zu tragen, daß ein Überspritzen und Mitreißen auch der geringsten Menge Zucker vermieden wird. Manche der in den Laboratorien anzutreffenden Destillationsaufsätze genügen, meist weil die Rohre zu eng gewählt sind, dieser Anforderung nicht.

Auffallende Untersuchungsergebnisse verschiedener Autoren ließen in Anbetracht der großen Empfindlichkeit der Zuckerarten gegen Säuren und Basen den Verdacht aufsteigen, daß Zersetzungsprodukte des Zuckers bei Ameisensäurebestimmungen Täuschungen hervorrufen könnten. Auf diese Möglichkeit wurde schon von Merl¹⁾ hingewiesen, doch scheinen experimentelle Untersuchungen darüber nicht vorzuliegen.

Vorversuche zeigten zunächst, daß bei der Wasserdampfdestillation von Rohrzuckerlösung unter den bei Ameisensäurebestimmungen in Betracht kommenden Bedingungen Zersetzungsprodukte nicht oder nur in ganz geringen Mengen entstehen. Setzt man jedoch Phosphorsäure, ja selbst Weinsäure hinzu, so kann man leicht Destillate erhalten, welche Aldehydreaktionen geben und Quecksilberchlorid reduzieren. Es war wesentlich, festzustellen, ob es sich lediglich um Bildung von Aldehyden oder auch von sauren reduzierenden Stoffen handelt. Im ersteren Falle hätten dieselben leicht unschädlich gemacht werden können; im zweiten Falle galt es, Bedingungen ausfindig zu machen, unter denen die Bildung derartiger Stoffe nicht oder nur in unerheblicher Menge stattfindet. Hinsichtlich der Bildung von Formaldehyd bei der Wasserdampfdestillation angesäuerter Zuckerlösungen verweise ich auf die Veröffentlichung von P. A. Yoder und W. G. Taggart²⁾.

Die Anordnung meiner Versuche war dieselbe, wie sie bei der „Bestimmung der Ameisensäure bei Gegenwart von Aldehyden“ beschrieben ist.

Versuch 1. Kolben a enthielt 50 g Saccharose³⁾ und 5 ccm Phosphorsäure zu 100 ccm gelöst; Kolben b war mit 1 g Calciumcarbonat und 100 ccm Wasser beschickt. Es wurden 1500 ccm Destillat erzeugt; dasselbe gab Aldehydreaktionen. Das Kalkfiltrat war hellweingelb und gab eine 70,0 mg Ameisensäure entsprechende Quecksilberchloridreduktion.

Versuch 2. Statt Phosphorsäure wurden 2 g Weinsäure angewendet; im übrigen waren die Versuchsmengen dieselben wie bei Versuch 1. Das Kalkfiltrat war schwach gelblich; die Reduktion entsprach 3,3 mg Ameisensäure.

Bei einer Wiederholung des Versuches wurde die Zuckerlösung etwas stärker konzentriert, sodaß stärkere Karamelisierung eintrat. Das Kalkfiltrat war hellweingelb und enthielt 39,0 mg Ameisensäure.

Versuch 3. Kolben a war mit 60 g Saccharose und 1,5 g Weinsäure, gelöst zu 150 ccm, Kolben b mit 1 g Calciumcarbonat und 100 ccm Wasser beschickt. Nach Destillation von 1100 ccm war das Kalkfiltrat ganz schwach gelblich und zeigte 2,4 mg Ameisensäure an.

Bei diesem und den folgenden Versuchen wurde das Kalkfiltrat zur Bestimmung der Ameisensäure auf 30–40 ccm eingeeengt und mit 1 g Natriumacetat und 5 ccm 10%-iger Quecksilberchloridlösung versetzt, im übrigen wurde wie gewöhnlich verfahren. Bei den in Betracht kommenden geringen Mengen ist die Genauigkeit dieser Bestimmungen nur eine geringe; es wird später versucht werden, die Genauigkeit zu erhöhen.

Bei allen folgenden Versuchen wurde — ebenso wie bei den früheren — Kolben b mit 1 g Calciumcarbonat und 100 ccm Wasser beschickt.

¹⁾ Diese Zeitschrift 1908, 16, 386.

²⁾ Diese Zeitschrift, 1910, 20, 208.

³⁾ Bei den Versuchen 1–5 wurde ein schwach gelblicher Krystallzucker des Handels, bei den Versuchen 6–8 weißer Kandiszucker verwendet.

Versuch 4. Kolben a enthielt 45 g Saccharose und 1,5 g Weinsäure, gelöst zu 150 ccm. Nach Durchdestillation von 1200 ccm Wasser war das Kalkfiltrat farblos und enthielt 0,6 mg Ameisensäure.

Versuch 5. Durch eine Lösung von 40 g Saccharose und 1,5 g Weinsäure zu 150 ccm wurden 1250 ccm durchdestilliert. Das Kalkfiltrat war farblos und zeigte 0,5 mg Ameisensäure an.

Versuch 6. Kolbenbeschickung: 40 g Saccharose und 1,5 g Weinsäure zu 150 ccm. 1000 ccm Destillat. Das farblose Kalkfiltrat enthielt 0,7 mg Ameisensäure.

Versuch 7. Mengen wie bei Versuch 6, außerdem Zusatz von 1,0 mg Ameisensäure. Es wurden 1,2 mg Ameisensäure gefunden.

Versuch 8. Kolbenbeschickung: 40 g Saccharose zu 150 ccm gelöst (ohne Säure). 1500 ccm Destillat. Gefunden: 0,2 mg Ameisensäure.

Das Ergebnis dieser Versuche ist folgendes: Sobald bei der Destillation von Zuckerlösungen mit Säuren Caramelisierung eintritt, die sich in Gelb- bis Braunfärbung der Zuckerlösung zu erkennen gibt, so tritt neben Aldehyd eine flüchtige reduzierende Säure auf, vermutlich Ameisensäure, und zwar in um so stärkerem Maße, je weiter die Caramelisierung fortschreitet. Die Hauptmenge der reduzierenden Säure dürfte Ameisensäure sein, deren Bildung am ehesten zu erwarten ist. Ein besonderer Versuch zeigte, daß im Gegensatz zu der das Kalkfiltrat färbenden Substanz die reduzierende Säure durch Wasserstoffsuperoxyd in alkalischer Lösung kaum angegriffen wird; dieses steht mit den Eigenschaften der Ameisensäure im Einklang.

Bei genügender Verdünnung und Anwendung organischer Säure läßt sich die Zuckerzersetzung auf ein so geringes Maß herabdrücken, daß in der Praxis bei dem Nachweise eines etwaigen Zusatzes von Ameisensäure zu Nahrungsmitteln keine Irrtümer entstehen können. Man wählt die Konzentration der der Wasserdampfdestillation zu unterwerfenden Flüssigkeit so, daß 100 ccm nicht mehr als 25 g Zucker und 1 g Weinsäure enthalten, und achtet sorgfältig darauf, daß während der Destillation diese Konzentration nicht überschritten wird.

Alsdann beträgt der Fehler kaum 1 mg und wird durch unvermeidliche Verluste ausgeglichen. Einen gewissen Anhaltspunkt bietet die Farbe des Kalkfiltrats; ist dasselbe nicht völlig farblos, sondern gelblich, so ist Caramelisierung eingetreten und die Bestimmung fehlerhaft.

Die vorliegenden Untersuchungen boten Anlaß, der Frage des Ameisensäuregehaltes des Bienenhonigs näherzutreten.

Nach den Ergebnissen einiger Vorversuche ist es fraglich, ob Ameisensäure ein regelmäßiger Bestandteil des Honigs ist; jedenfalls geht der Ameisensäuregehalt mehrerer untersuchter echter Honige nicht über 1 bis 2 mg in 100 g hinaus. Zur sicheren Entscheidung, ob die gefundenen geringen Mengen reduzierender Säuren bei der Destillation entstandenes Zersetzungsprodukt des Zuckers oder ursprünglicher Bestandteil des Honigs sind, bedarf es einer Verfeinerung der Bestimmungsmethode und eingehender Versuche, über welche demnächst berichtet werden wird.

7. Bestimmung der Ameisensäure bei Gegenwart von schwefliger Säure.

Wenn neben Ameisensäure schweflige Säure vorhanden ist, läßt sich die letztere leicht durch Oxydation mit Wasserstoffsuperoxyd in alkalischer Lösung unschädlich machen. Über die Beständigkeit der Ameisensäure gegen Wasserstoffsuperoxyd und über die zweckmäßigste Art der Zerstörung des Wasserstoffsuperoxyds, welches die

Ameisensäurebestimmung stören würde, berichteten Auerbach und Plüddemann in der bereits erwähnten Arbeit, in welcher die Bestimmung von Formaldehyd und Ameisensäure nebeneinander behandelt ist. Das Verfahren konnte in abgeänderter Form hier Anwendung finden. Die Oxydation von Sulfit verläuft langsamer als die von Formaldehyd, sodaß die Einwirkungsdauer des Wasserstoffsuperoxyds bei gewöhnlicher Temperatur auf 4 Stunden erhöht werden mußte. In der Wärme — auf dem Dampfbade — ist die Oxydation bereits nach $\frac{1}{4}$ Stunde beendet, doch findet nach Auerbach und Plüddemann in der Hitze eine geringe Oxydation von Ameisensäure zu Kohlensäure statt. Angestellte Versuche ergaben, daß der Verlust an Ameisensäure bei viertelstündigem Erhitzen sehr gering ist; immerhin ist die Behandlung bei gewöhnlicher Temperatur vorzuziehen, bei welcher jeder Verlust vermieden wird.

Man verfährt in folgender Weise: Das eingeeengte neutrale Destillat oder Kalkfiltrat, dessen Menge etwa 25 bis 100 ccm betrage, wird mit etwa 5 ccm $\frac{1}{4}$ N.-Natronlauge und 3—5 ccm 3 0/0-igem Wasserstoffsuperoxyd versetzt und damit 4 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Alsdann fügt man zur Zerstörung des überschüssigen Wasserstoffsuperoxyds etwas breiförmiges Quecksilberoxyd hinzu, welches man in der Siedehitze durch Eingießen von Quecksilberchloridlösung in überschüssige Natronlauge, Auswaschen durch Dekantieren und Sammeln auf einem Filter dargestellt hat. Das Quecksilberoxyd ist nur dann genügend wirksam, wenn es frisch dargestellt oder höchstens einige Wochen alt und in feuchtem Zustande aufbewahrt ist; es ist im Überschuß anzuwenden. Nach einer halben Stunde ist die Zersetzung beendet; man filtriert, wäscht gut aus und bestimmt im Filtrat die Ameisensäure in üblicher Weise. Über einige der angestellten Versuche und Beleganalysen gibt Tab. VI Aufschluß.

Tabelle VI.

No	Menge des Zusatzes von		Art und Dauer der Einwirkung	Ameisensäure	
	neutralem Natriumsulfit	3 0/o-igem Wasserstoff- superoxyd cem		angewendet	gefunden
1	—	5	Wasserbad, 1/2 Stunde	12,0	11,5
2	—	5	„ 1/2 „	12,0	11,7
3	—	5	„ 1/2 „	119,9	119,3
4	0,2	5	„ 1/4 „	60,0	59,8
5	0,1	3	Zimmertemperatur, 1/2 Stunde	4,0	4,3
6	0,2	3	„ 1/2 „	15,0	17,0
7	0,3	5	„ 1/2 „	60,0	62,8
8	0,2	5	„ 4 Stunden	6,0	5,9
9	0,1	3	„ 4 „	24,6	24,8
10	0,1	3	„ 4 „	60,0	59,8

8. Bestimmung der Ameisensäure bei Anwesenheit von Salicylsäure.

Versetzt man die Lösung eines Salzes der Salicylsäure mit Quecksilberchloridlösung, so tritt keine Ausscheidung ein. Erhitzt man die Mischung jedoch unter Zusatz von Natriumacetat, wie es bei der Bestimmung der Ameisensäure geschieht, so findet Trübung und Ausscheidung einer Quecksilbersalicylsäureverbindung statt. Diese Ausscheidung kann durch Natriumchlorid verhindert werden, sodaß bei Gegen-

wart desselben die Bestimmung der Ameisensäure ausführbar ist. Übergroße Mengen von Natriumchlorid beeinträchtigen die Genauigkeit der Ameisensäurebestimmung; die bei Anwesenheit von Salicylsäure erforderliche Menge stört jedoch nicht. Sind neben größeren Mengen von Ameisensäure nur geringe Mengen Salicylsäure vorhanden, so kann die Ausscheidung der Quecksilbersalicylsäureverbindung unterbleiben, da unter Umständen das mit der Quecksilberchloridlösung hinzugebrachte, wie das aus der freigewordenen Salzsäure und dem Natriumacetat entstandene Natriumchlorid bereits ausreichen.

Bei Anwesenheit von Salicylsäure verfährt man in folgender Weise: Der neutralen Flüssigkeit, welche Salicylsäure und Ameisensäure enthält (dem neutralisierten und eingedampften Destillat bzw. dem Kalkfiltrat), werden auf je 50 ccm 1 g Natriumchlorid, 1 bis 2 g Natriumacetat und etwa 0,5 g Quecksilberchlorid zugesetzt. Das Flüssigkeitsvolumen wählt man dann so, daß ein nicht zu geringer Überschuß an Quecksilberchlorid vorhanden ist. Im übrigen verfährt man wie bei jeder anderen gewichtsanalytischen Bestimmung. Wesentlich geringere als die angegebenen Mengen Natriumchlorid verhindern eine durch Salicylsäure hervorgerufene Ungenauigkeit nicht, wie No. 4 der Tabelle VII zeigt; in diesem Falle ließ schon die grüngelbliche Färbung des Quecksilberchlorürs den Fehler erkennen. Daß unter den vorgeschriebenen Bedingungen einerseits das Natriumchlorid keine Fehler bedingt und andererseits jede Störung durch die Salicylsäure hintangehalten wird, zeigen die ausgeführten Bestimmungen der Tabelle VII.

Tabelle VII.

No.	Menge des Zusatzes von				Volumen der Flüssig- keit ccm	Ameisensäure	
	Salicylsäure	Natrium- chlorid	Natrium- acetat	Queck- silber- chlorid		ange- wendet	gefunden
	g	g	g	g		mg	mg
1	—	0,5	1,0	0,5	50	4,0	3,9
2	—	1,0	1,0	0,5	50	4,0	4,0
3	—	1,0	3,0	0,5	50	4,0	3,6
4	0,2 g als Calciumsalz	0,5	1,0	0,5	50	4,0	5,0
5	0,2 g „ „	1,0	1,0	0,5	50	4,0	3,9
6	0,2 g „ „	1,0	1,0	0,5	75	8,0	7,6
7	0,5 g Natriumsalicylat	3,0	3,0	2,0	150	60,0	59,6

Anschließend wurde ein Versuch mit Himbeersirup, dem Ameisensäure und Salicylsäure zugesetzt wurde, ausgeführt. Es wurde ein Himbeersirup des Handels genommen, da Saft eigener Herstellung nicht zur Verfügung stand.

50 g Himbeersirup, verdünnt mit 75 ccm Wasser, wurden der Wasserdampfdestillation unter Durchleiten des Dampfes durch eine Aufschwemmung von 1 g Calciumcarbonat und 100 ccm Wasser unterworfen. Nach Destillation von 1200 ccm entsprach die Quecksilberreduktion des Kalkfiltrates 4,5 mg Ameisensäure. Der Versuch wurde dann unter Zusatz von 60 mg freier Ameisensäure und 0,1 g Salicylsäure wiederholt. Es wurden 60,8 mg bzw. nach Abzug der vom Himbeersaft selbst gelieferten 4,5 mg noch 56,3 mg Ameisensäure gefunden. Bei einer nochmaligen Wiederholung des Versuches wurde außerdem noch 1 g Weinsäure zugegeben. Jetzt betrug die gefundene Ameisensäuremenge 61,7 mg bzw. nach Abzug von 4,5 mg noch 57,2 mg.