

**ALLGEMEINE METHODE
ZUR BESTIMMUNG DER AMEISENSÄURE
IN LEBENSMITTELN
(HONIG, FRUCHTSÄFTE UND FRUCHTSIRUPE)**

DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER WÜRDE EINES DOKTOR-INGENIEURS

DER

TECHNISCHEN HOCHSCHULE BERLIN

VORGELEGT AM 7. JUNI 1938

VON

ROMÉO PAYFER

INGÉNIEUR CHIMISTE, AUS MONTRÉAL

GENEHMIGT AM 17. NOVEMBER 1938

SPRINGER-VERLAG BERLIN HEIDELBERG GMBH · 1939

Berichter: Professor Dr. Bachér
Mitberichter: Professor Dr. Scheibler

ISBN 978-3-662-27897-0 ISBN 978-3-662-29400-0 (eBook)
DOI 10.1007/978-3-662-29400-0

Die Arbeit erscheint in der
„Zeitschrift für Untersuchung der Lebensmittel“ unter dem Titel
„Über die Bestimmung der Ameisensäure in Lebensmitteln“

Die Ameisensäure $H \cdot COOH$ wird gewöhnlich das erste Glied der Fettsäurereihe genannt. Die Glieder dieser Fettsäurereihe sind durch eine endständige Carboxylgruppe $-COOH$ und nach der anderen Seite hin durch einen Fettsäurerest gekennzeichnet. Es handelt sich also um ausgesprochen polare Verbindungen. In einer monomolekularen Oberfläche, z. B. auf Wasser, ordnen sich die einzelnen Moleküle der höheren Glieder so an, daß die Gruppe $COOH$ nach dem Wasser zu, der Fettsäurerest entgegengesetzt gerichtet ist. Die Gruppe $-COOH$ ist hydrophil, der Kohlenwasserstoffrest hydrophob. Die Polarität ist um so mehr ausgeprägt, je höher wir in der homologen Reihe emporsteigen.

Prüfen wir die Glieder der Fettsäurereihe mit Lösungsmitteln, so finden wir zunächst gegenüber Wasser, daß die Säuren um so schwerer löslich werden, je höher wir in der Reihe emporsteigen, um so leichter, je niedriger das Molekulargewicht ist. Prüfen wir mit organischen sauerstofffreien Lösungsmitteln, z. B. mit Benzin, Benzol, Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff u. a., so finden wir eine ansteigende Löslichkeit mit zunehmender Zahl der Kohlenstoffatome (allerdings bei den höchsten Gliedern wieder schwerere Löslichkeit). Offenbar ist der beherrschende Faktor bei dieser Löslichkeit auch hier der Gehalt der Säure an hydrophiler $COOH$ -Gruppe bzw. an hydrophobem Kohlenwasserstoffrest. Daß es sich um sehr große zahlenmäßige Unterschiede handeln muß, erkennt man leicht, wenn man den $COOH$ -Gehalt der Fettsäuren in Gewichtsprozenten des Gesamtmoleküls ausdrückt:

Tabelle 1.

Benennung:	Ameisen- säure	Essig- säure	Propion- säure	Butter- säure	Capryl- säure	Laurin- säure	Palmitin- säure	Stearin- säure
Formel $COOH$	CH_2O_2 97,8	$C_2H_4O_2$ 75,0	$C_3H_6O_2$ 60,8	$C_4H_8O_2$ 51,1	$C_8H_{16}O_2$ 31,2	$C_{12}H_{24}O_2$ 22,5	$C_{16}H_{32}O_2$ 17,6	$C_{18}H_{36}O_2$ 15,8 %
Kohlen- wasser- stoffrest	2,2	25,0	39,2	48,9	68,8	77,5	82,4	84,2 %

Da der Kohlenwasserstoffrest besondere Neigung zeigen wird, sich in Benzin oder Benzol zu lösen, nimmt es nicht wunder, wenn die Löslichkeit der Fettsäuren darin mit Zunahme des Anteiles an Kohlenwasserstoffrest steigt.

Betrachten wir uns nun wieder das erste Glied der Reihe, die Ameisensäure, so finden wir, daß die COOH-Gruppe an Gewicht nicht weniger als 97,8% des Moleküls ausfüllt. Dazu ist dann aber der Rest eigentlich kein Kohlenwasserstoffrest, sondern einfacher Wasserstoff. Da Wasserstoff nach Löslichkeit und Reaktionsfähigkeit wesentlich andere Eigenschaften besitzt als Kohlenwasserstoffe, ist damit auch ein wenigstens quantitativ verschiedenes Verhalten der Ameisensäure gegenüber den höheren Homologen gegeben.

1. Vorversuche über Destillation der Ameisensäure mit organischen Lösungsmitteln.

Vor allem ist es die viel größere Affinität der Ameisensäure zu Wasser, die sie von den höheren Homologen unterscheidet. Ameisensäure ist nicht nur in jedem Verhältnis in Wasser löslich, sondern geht damit auch festere Bindungen in Form von Hydraten ein, was zur Folge hat, daß die Trennung der Ameisensäure von Wasser mit den größten Schwierigkeiten verbunden ist. Während die anderen Fettsäuren mit Wasserdampf sich wesentlich leichter destillieren lassen, ist die Destillation der Ameisensäure mit Wasserdampf sehr langwierig. Selbst bei sehr langer Destillation, bis etwa 1—1,5 l Wasser übergegangen sind, findet man nicht mehr als 90—96% der vorhandenen Ameisensäure im Destillat, dazu in außerordentlich starker Verdünnung.

Nun war aber gerade die Ameisensäurebestimmung in Lebensmitteln auf einer derartigen Wasserdampfdestillation aufgebaut. Es ist das Verdienst von H. Fincke gewesen, diese Methodik auf einen so hohen Grad der Vollkommenheit gebracht zu haben, wie es die in der Grundlage liegenden Schwierigkeiten nur eben zuließen. Das Verfahren von Fincke gilt daher auch mit Recht als die bisher beste Arbeitsweise.

Grundlagen einer neuen Methodik zur Abtrennung der Ameisensäure.

Die obigen Überlegungen entsprechende Ähnlichkeit und Affinität der Ameisensäure mit Wasser führten uns auf den Gedanken, zu ihrer Bestimmung Methoden anzuwenden, die sich in den letzten Jahren für die Wasserbestimmung in Lebensmitteln gut bewährt haben, nämlich die Destillation mit organischen, Wasser nicht lösenden flüchtigen Lösungsmitteln. Da die Ameisensäure etwa den gleichen Siedepunkt wie Wasser besitzt und auch in der Löslichkeit in den in Frage kommenden Lösungsmitteln sich von Wasser nicht wesentlich unterscheidet, war anzunehmen, daß beim Destillieren einer Ameisensäurelösung gleichzeitig mit dem Wasser dann auch die Ameisensäure überdestillieren würde. Es mußte so unter geeigneten Bedingungen gelingen, die Hydratbildung durch die Entfernung des Wassers selbst durch Destillation zu überwinden und damit die ohne Wasser leicht flüchtige Ameisensäure mit überzudestillieren. Das aus zwei Phasen bestehende Destillat wird dann in der wässerigen Phase die Ameisensäure enthalten, und zwar in etwa der gleichen Konzentration wie in der ursprünglichen Lösung.

Versuche mit verschiedenen Destillationsmitteln.

Es galt nun zunächst, die geeigneten Bedingungen für eine solche Arbeitsweise ausfindig zu machen.

Weil es notwendig ist, die gesamte Wassermenge überzudestillieren, empfiehlt es sich, ein möglichst geringes Volumen an wässriger Ameisensäurelösung anzuwenden, also von möglichst konzentrierter Ameisensäure auszugehen. Diesem Bestreben sind jedoch, wie wir noch sehen werden, durch Rücksichtnahme auf die Begleitstoffe Grenzen gesetzt.

Ameisensäure ist eine verhältnismäßig weniger stabile Verbindung. Durch wasserentziehende Mittel, z. B. durch konzentrierte Schwefelsäure, gelingt es, sie in Wasser und Kohlenoxyd zu zerlegen. Wir prüften daher zunächst, ob nicht etwa durch Destillieren mit Wasserdestillationsmitteln eine Zersetzung der Ameisensäure eintritt. Diese Vorversuche wurden so vorgenommen, daß je 5 ccm wässrige Ameisensäurelösung mit 100 ccm Benzol, Toluol und Benzin (Siedep. 100—110°) 2 Stunden am Rückflußkühler gekocht und dann die verbliebene Ameisensäure acidimetrisch titriert wurde. Als Verbindungsmittel mit dem Rückflußkühler diente zuerst ein Korkstopfen. Das Ergebnis war folgendes (s. Tab. 2).

Die in der letzten Spalte angegebenen Verluste von 2,2—5,0% sind nicht so erheblich, daß eine Zersetzung der Ameisensäure selbst bei zwei-stündiger Kochung anzunehmen ist. Es handelt sich um verflüchtigte oder um von dem Korken aufgenommene Mengen Ameisensäure. Daß keine Zersetzung eintritt, wurde dann weiter durch folgende Versuche erwiesen, bei denen ein Apparat mit Normalschliffverbindung benutzt wurde (vgl. Abb. 1).

Der gefundene Unterschied bei Tetrachlorkohlenstoff von 0,1 ccm Natronlauge liegt in den Fehlergrenzen. Eine Zerstörung von Ameisensäure ist also nicht eingetreten. Der Unterschied von 0,2 ccm Natronlauge mit Xylol bedeutet nur, daß das Destillationsmittel nicht rein bzw. etwas säurehaltig war.

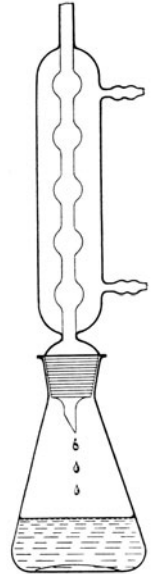


Abb. 1. Verlustfreie Kochung am Rückflußkühler.

Tabelle 2.

Destillationsmittel	Ameisensäure			Verlust %	Destillationsmittel	Ameisensäure			Verlust %
	Titrationwert n_{10}° -NaOH ccm	HCOOH mg	%			Titrationwert n_{10}° -NaOH ccm	HCOOH mg	%	
Benzol . . .	21,6	99,4	97,7	2,2	Toluol . . .	21,1	97,1	95,5	4,5
Benzol . . .	21,4	98,4	96,8	3,2	Benzin . . .	21,1	97,1	95,5	4,5
Toluol . . .	21,3	98,0	96,4	3,6	Benzin . . .	21,0	96,6	95,0	5,0

Tabelle 3. Kochen am Rückflußkühler 1 Stunde lang.
10 ccm HCOOH + 150 ccm Destillationsmittel.

Art des Destillationsmittels	Gefundene Ameisensäure in			Art des Destillationsmittels	Gefundene Ameisensäure in		
	n_{10}° -NaOH ccm	HCOOH mg	%		n_{10}° -NaOH ccm	HCOOH mg	%
Chloroform	8,9	40,9	100,0	Toluol	8,9	40,9	100,0
Tetrachlorkohlenstoff	8,8	40,5	98,9	Benzin	8,9	40,9	100,0
Benzol	8,9	40,9	100,0	Xylol	9,1	41,8	102,2

10 ccm Ameisensäure = 8,9 ccm n_{10}° -NaOH = 40,9 mg HCOOH.

Auch nach Kochung mit Petroläther am Rückflußkühler findet man praktisch die gleiche Menge Ameisensäure zurück wie nach dem Kochen mit Wasser.

Tabelle 4. Kochung am Rückflußkühler (6 $\frac{1}{2}$ Stunden).
10 ccm Ameisensäure + 100 ccm Destillationsmittel.

Destillationsmittel	Entsprechend Ameisensäure gefunden		
	NaOH ccm	HCOOH mg	%
Petroläther	40,0	184,00	99,95
Wasser	40,1	184,46	100,00

100 ccm Ameisensäurelösung = 184,46 mg HCOOH.

Nun galt es festzustellen, welches Lösungsmittel für unsere Ameisensäuredestillation die beste Eignung besitzt.

Wir begannen mit Benzol.

100 ccm Ameisensäurelösung, die 184,9 mg HCOOH enthielten, wurden fraktioniert destilliert, mit folgendem Ergebnis:

Tabelle 5. Destillation mit Benzol.

Fraktion ccm	Gefundene Ameisensäure			
	n_{10} -NaOH ccm	HCOOH mg	Ausbeute	
			in der Fraktion %	im Gesamtdestillat %
0—10	0,8	3,7	2,0	2,0
10—20	1,4	6,4	3,5	5,5
20—30	1,5	6,9	3,7	9,2
30—40	1,2	5,5	2,9	12,1
40—50	1,5	6,9	3,7	15,8
50—60	1,3	6,0	3,2	19,0
60—70	1,7	7,8	4,2	23,2
70—80	1,4	6,4	3,5	26,7
80—90	1,6	7,4	4,0	30,7
90—100	1,5	6,9	3,7	34,4
Reste im Kühler	1,1	5,1	2,7	37,1
Rückstand	24,9	114,5	62,2	99,3

Bei diesem Versuch (vgl. Abb. 2, Kurve I) ist also der größere Teil der Ameisensäure im Rückstand geblieben.

Durch Anwendung einer größeren Benzolmenge war ein besseres Ergebnis zu erwarten, wie der Versuch bestätigte.

Tabelle 6.

Fraktionen ccm	Gefundene Ameisensäure			
	n_{10} -NaOH ccm	HCOOH mg	Ausbeute	
			in der Fraktion %	im Gesamtdestillat %
0—50	5,7	26,2	14,2	14,2
50—100	7,1	32,7	17,7	31,8
100—150	6,0	27,6	14,9	46,8
150—200	6,7	30,8	16,7	63,4
200—250	5,6	25,8	13,9	77,4
250—300	4,3	19,8	10,7	88,0
300—350	2,7	12,4	6,7	94,8
Rückstand	1,6	7,4	4,0	98,8

Bei diesem Versuch sind also mit 350 ccm Destillat etwa 95% der vorhandenen Ameisensäure überdestilliert worden. Mit Benzol läßt sich also die Ameisensäure übertreiben, aber erst nach längerer Destillation.

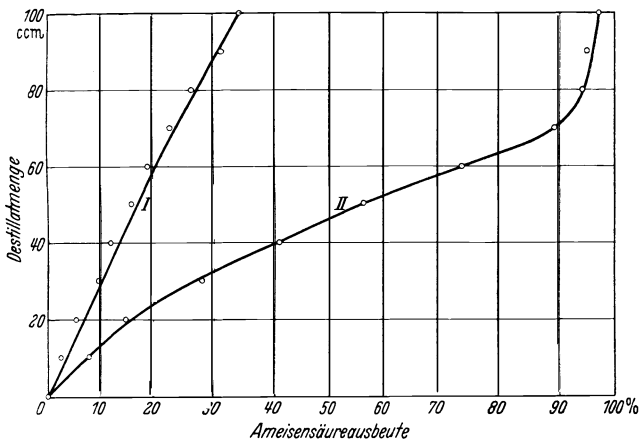


Abb. 2. Destillation der Ameisensäure mit Benzol und Toluol.

Ein Versuch mit Petroläther vom Siedep. 50—70° zeigte ein ähnliches Verhalten wie Benzol. Erst nach langer Destillation ließ die Ameisensäure mit dem Wasser größtenteils über-treiben.

Wesentlich günstiger verlief der Versuch mit Toluol. Schon ein Vorversuch mit 10 ccm Ameisensäurelösung und 100 ccm Toluol lieferte 98,0% Ausbeute im Destillat. Die fraktionierte Destillation zeigt uns den Verlauf des Überganges der Ameisensäure.

Tabelle 7.

10 ccm Ameisensäurelösung (= 550,6 mg HCOOH) + 100 ccm Toluol.

Fraktionen ccm	Gefundene Ameisensäure			
	n/10-NaOH ccm	HCOOH mg	Ausbeute	
			in der Fraktion %	im Gesamtdestillat %
0—10	5,1	23,5	4,3	4,3
10—20	13,3	61,2	11,1	15,4
20—30	15,1	69,5	12,6	28,0
30—40	16,1	74,1	13,5	41,5
40—50	17,5	80,5	14,6	56,1
50—60	21,0	96,6	17,5	73,6
60—70	18,4	84,6	15,4	89,0
70—80	5,4	24,8	4,4	93,4
80—90	0,9	4,1	0,7	94,1
90—100	0,5	2,3	0,4	94,5
Nachgespült	2,0	9,2	1,6	96,1
Rückstand	0,8	3,7	0,6	96,7

Ein weiterer Versuch mit 10 ccm Ameisensäurelösung mit 184,9 mg HCOOH in 10 ccm und 250 ccm Toluol verlief in ähnlicher Weise wie folgt (s. Tab. 8).

Abb. 2 zeigt in Kurve II den Verlauf der Destillation mit Toluol nach Tab. 7. Charakteristisch dafür ist das erste gleichmäßige Ansteigen der Ameisensäureausbeute, wie sie etwa der Destillation von wässrigen Ameisensäurelösungen entspricht. Dann ändert sich aber ganz allmählich die Richtung der Kurve und wendet sich schließlich steil nach oben. Dies letzte Stück zeigt an, mit welcher Beschleunigung schließlich die Ameisensäure übergeht, wenn die zur Hydratbildung nötige Wassermenge durch die Destillation bis zum Verschwinden verkleinert wird.

Tabelle 8.

Fraktionen ccm	Gefundene Ameisensäure			
	n_{10} -NaOH ccm	HCOOH mg	Ausbeute	
			in der Fraktion %	im Gesamtdestillat %
0—50	7,8	35,9	19,4	19,4
50—100	10,1	46,5	25,1	44,5
100—150	14,5	66,7	36,1	80,6
150—200	6,2	28,5	15,4	96,0
200—250	0,3	1,4	0,7	96,7
Nachgespült	0,4	1,8	1,0	97,7
Rückstand	0,2	0,9	0,5	98,2

Anders als bei vielen sonstigen Destillationen müssen wir also, um Verluste und sonstige Störungen auszuschalten, gerade dieser letzten Stufe der Destillation besondere Sorgfalt zuwenden. Von der Lösung dieser Aufgabe hängt in der Hauptsache die Erreichung unseres Zieles ab.

Die besondere Eignung von Toluol für unseren Zweck fanden wir an weiteren Versuchen bestätigt, wobei wir gleichzeitig das Verhalten der höheren Homologen der Ameisensäure und einiger anderer organischer Säuren prüften.

Tabelle 9.

10 ccm Lösung + 100 ccm Toluol, Destillatmenge 100 ccm.

Säure	Konzentration g in 100 ccm	Titrationswert in n_{10} -NaOH			Ausbeute %
		insgesamt berechnet ccm	Destillat* ccm	Rückstand ccm	
Ameisensäure	1,15	9,8	9,7	0,2	98,0
Ameisensäure	5,75	47,8	47,1	0,2	98,5
Ameisensäure	5,75	47,8	46,8	0,2	97,9
Essigsäure	3,0	49,0	48,5	0,1	98,7
Propionsäure	3,7	52,2	51,1	0,8	98,2
Buttersäure	4,4	54,4	37,3	13,1	73,8
Valeriansäure	0,4700	46,0	12,8	32,9	28,0
Capronsäure	0,4668	> 40,2	5,7	34,5	14,2
Caprylsäure	0,5840	> 40,5	1,2	39,1	3,0
Nonylsäure	0,6325	40,0	1,0	38,3	2,5
Milchsäure	4,5	32,9	10,1	22,6	30,8
Benzoessäure	0,4425	< 36,3	1,3	34,9	3,6

* Einschließlich Spülflüssigkeit.

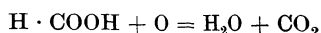
Essigsäure und Propionsäure werden also bei dieser Destillation mit Toluol noch praktisch vollständig, ebenso wie Ameisensäure, überdestilliert. Bei den höheren Homologen nimmt dann die Ausbeute schnell ab, bis sie bei Nonylsäure auf 2,5% gesunken ist. Bemerkenswert ist, daß auch Benzoessäure sehr wenig mitdestilliert, dagegen eigenartigerweise die Milchsäure in beträchtlicher Menge.

Die Anwendung unserer Destillation auf die Trennung dieser Säuren für die Lebensmitteluntersuchung muß Aufgabe einer späteren Arbeit bleiben. So scheint es uns, daß vielleicht die Bestimmung der flüchtigen Säuren durch Toluoldestillation vereinfacht oder verbessert werden kann. Auch die Unterschiede bei Buttersäure und ihren höheren Homologen sind so beträchtlich, daß man an eine Auswertung in der Fettanalyse denken kann.

Für unsere vorliegende Aufgabe hat sich jedenfalls ergeben, daß von den vorstehend untersuchten Destillationsmitteln Toluol imstande ist, die Ameisensäure verhältnismäßig am raschesten überzutreiben. Bei den weiteren Versuchen hat sich außerdem noch Benzin vom Siedep. 100—110° bewährt, worauf wir weiter unten (S. 11) zurückkommen werden.

Die analytische Bestimmung der Ameisensäure.

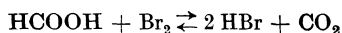
Für die vorstehenden Versuche wurde die Ameisensäure acidimetrisch gemessen. Da wir bei Destillaten aus Lebensmitteln auch mit dem Vorliegen anderer Säuren zu rechnen haben, die bei der Toluoldestillation ebenfalls übergehen, müssen wir uns hier zunächst mit den anderen Mitteln zur Messung der Ameisensäure befassen. Diese anderen Mittel beruhen darauf, daß Ameisensäure zu Wasser und Kohlendioxyd oxydiert werden kann.



Da diese Oxydation leicht verläuft, genügen bereits schwache Oxydationsmittel, von denen sich besonders die beiden folgenden eingeführt haben:

1. Brom,
2. Mercurichlorid.

1. Die Oxydation mit Brom bietet den Vorteil, daß man die Umsetzung leicht titrimetrisch verfolgen kann. Die Prüfung ist bequem und einfach. Die Umsetzung verläuft nach der Grundgleichung

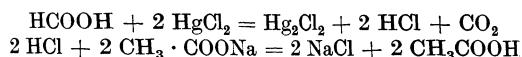


Die Umsetzung nach rechts ist nur dann vollständig, wenn man den entstehenden Bromwasserstoff wegnimmt, was einfach durch Zufügung von Natriumacetat erreicht wird. Der Überschuß an Brom wird jodometrisch gemessen und durch Abzug des Ergebnisses von der angewendeten Menge Bromlösung der Bromverbrauch gefunden.

Ein Nachteil der Brommethode ist, daß Brom auch mit vielen anderen organischen Stoffen reagiert, wodurch dann bei unserer Prüfung Ameisensäure vorgetäuscht werden könnte.

2. Quecksilberchlorid ist wesentlich weniger reaktionsfähig als freies Brom. Andererseits reicht aber seine Oxydationswirkung aus, um Ameisensäure vollständig zu oxydieren, wenn der bei der Reaktion sich bildende Chlorwasserstoff entfernt wird, was auch hier durch Natriumacetat erfolgt.

Die Umsetzung verläuft auf folgender Grundlage:



Das entstehende Quecksilberchlorür scheidet sich unlöslich ab und wird gewogen.

Einige Versuche mit der bromometrischen Methode ergaben folgendes Bild:

Die angewendete Methode war die von G. v. Szelényi¹ angegebene:

In einem Erlenmeyerkolben mit Glasstopfen (sog. Jodzählkolben) wurden 5 ccm 10proz. Natriumacetatlösung mit der Bromlösung und der Ameisensäurelösung gemischt, nach einer gewissen Zeit mit 5 ccm 10proz. Kaliumjodidlösung versetzt und der Jodüberschuß mit 0,1n-Natriumthiosulfatlösung zurücktitriert.

Das Ergebnis war folgendes:

¹ Z. Unters. Lebensmittel **63**, 536 (1932).

Tabelle 10.

Angewendete Bromlösung (2,7 ccm Br ₂ in 1 l 96 proz. Essigsäure) ccm	Natriumacetat 50 g in 100 ccm ccm	Ameisensäurelösung (1 ccm = 4,876 mg) ccm	Gesamt-volumen ccm	Ein-wirkungs-dauer Std.	Ameisensäure		Ausbeute %
					angewendet mg	gefunden mg	
20,0	5,0	2,0	27,0	5 ¹ / ₄	9,7	9,0	92,5
20,0	5,0	5,0	30,0	5 ¹ / ₄	24,4	23,7	98,5
20,0	5,0	8,0	33,0	5 ¹ / ₄	39,0	37,7	97,0
20,0	5,0	9,0	34,0	5 ¹ / ₄	43,8	42,0	95,8
20,0	5,0	0,5	25,5	1 ¹ / ₂	2,4	2,3	94,2
20,0	5,0	1,0	26,0	1 ¹ / ₂	4,9	4,6	96,4
20,0	5,0	3,0	28,0	1 ¹ / ₂	14,6	14,3	97,5
20,0	5,0	5,0	30,0	1 ¹ / ₂	24,4	24,6	100,9
20,0	5,0	5,0	30,0	1 ¹ / ₂	24,4	24,8	101,5
20,0	5,0	10,0	35,0	1 ¹ / ₂	48,8	42,7	87,5
40,0	5,0	8,0	53,0	1 ¹ / ₁₂	39,0	38,5	99,0
40,0	5,0	9,0	54,0	1 ¹ / ₁₂	43,8	43,6	99,5
40,0	5,0	10,0	55,0	1 ¹ / ₁₂	48,8	48,3	99,0
40,0	5,0	11,0	56,0	1 ¹ / ₁₂	53,6	53,0	98,5
40,0	5,0	12,0	57,0	2	58,6	58,0	98,9

Die Titration wurde jeweils mit 0,1 n-Thiosulfatlösung nach Zusatz von je 5 ccm 10 proz. Kaliumjodidlösung ausgeführt.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde mit einer stärker verdünnten Bromlösung unter Titration mit 0,01 n-Thiosulfatlösung geprüft, ob die Bromoxydation sich auch noch zum Nachweis sehr kleiner Mengen Ameisensäure eignet. Die Bromlösung enthielt hier 0,135 ccm Brom in 500 ccm Essigsäure. An 50 proz. Natriumacetatlösung wurden wieder 5 ccm verwendet. Das Ergebnis war folgendes:

Tabelle 11.

Angewendete Bromlösung (0,135 ccm in 500 ccm) ccm	Natriumacetat 50 g in 100 ccm ccm	Ameisensäure mg	Gesamt-volumen ccm	Ein-wirkungs-dauer Std.	Ameisensäure	
					angewendet mg	gefunden mg
20,0	5,0	2,0	30,0	1 ¹ / ₂	2,0	1,2
20,0	5,0	4,0	35,0	1 ¹ / ₂	4,0	2,2
20,0	5,0	2,0	30,0	1 ¹ / ₂	2,0	1,3
20,0	5,0	2,0	30,0	1	2,0	1,4
20,0	5,0	2,0	30,0	18 ¹ / ₂	2,0	1,4
20,0	5,0	2,0	30,0	21 ¹ / ₂	2,0	1,4
50,0	5,0	2,0	60,0	1 ¹ / ₂	2,0	1,2
50,0	5,0	2,0	60,0	1	2,0	1,1
50,0	5,0	2,0	60,0	1 ¹ / ₂	2,0	1,3
50,0	5,0	2,0	60,0	1	2,0	1,3

Die Versuche zeigen, daß in so stark verdünnter Lösung die Oxydation der Ameisensäure durch Brom nicht mehr vollständig ist. Die Methode ist also für sehr kleine Mengen Ameisensäure nicht geeignet.

Nun wurde geprüft, in welchem Maße andere Stoffe gegebenenfalls bei der Bromoxydation Ameisensäure vortäuschen können. Dazu wurden bestimmte Mengen derselben, gelöst in 10 ccm Wasser + 5 ccm Natriumacetatlösung, 1/2 Stunde mit der Bromlösung behandelt, dann mit Kaliumjodidlösung versetzt und der Jodüberschuß zurücktitriert. Das Ergebnis war folgendes (s. Tab. 12).

Hieran können also bei der Bromoxydation Salicylsäure, Malonsäure, Oxalsäure, Glucose und Milchzucker bedeutende Mengen Ameisensäure vortäuschen, erhebliche Mengen auch noch Milchsäure, Gerbsäure und Alkohol. Eine Abtrennung der Ameisensäure von diesen Stoffen bleibt also unverändertes Erfordernis. Diese Abtrennung kann von den erstgenannten Stoffen durch unsere Destillation, von Alkohol durch Abdampfen nach vorheriger Neutralisation erfolgen.

Tabelle 12.

Gegenstand	Angewendete Menge	Gesamtvolumen ccm	Verbrauch an Bromlösung ccm	Scheinbare Ameisensäure mg
Glucose	1 g	20	4,0	9,2
Fructose	1 g	20	0,3	0,7
Saccharose	1 g	20	0,0	0,0
Milchzucker	1 g	20	2,6	6,0
Citronensäure	1 g	20	0,2	0,5
Weinsäure	1 g	20	0,2	0,5
Apfelsäure	1 g	20	0,4	0,9
Malonsäure	0,0865 g	40	21,1	48,5
Milchsäure	1 ccm	20	0,7	1,6
Oxalsäure	1 g	20	3,8	8,7
Gerbsäure	0,01 g	20	1,0	2,3
Benzoensäure	1 g	20	0,0	0,0
Salicylsäure	0,1052 g	40	36,0	82,8
Buttersäure	1 ccm	20	0,3	0,7
Glycerin	1 ccm	20	0,2	0,5
Alkohol	1 ccm	20	1,8	4,1

Die Bestimmung der Ameisensäure nach der Quecksilberchloridmethode wurde von Fincke u. a. so eingehend durchgeprüft und hat sich im Laufe der früheren Jahre so bewährt, daß wir von weiteren besonderen Versuchen darüber glaubten absehen zu können. Ihre Brauchbarkeit wird zudem durch die im folgenden Teil beschriebenen Bestimmungen bestätigt.

Destillationsversuche bei Gegenwart störender Stoffe.

Zwecks Abtrennung der Ameisensäure von den bei der Oxydation mit Brom störenden Begleitstoffen wurde nun unsere Destillation mit Toluol versucht. Da in Lebensmitteln die Ameisensäure als ziemlich starke Säure in teilweise gebundener Form vorliegen kann, muß die Destillation in Gegenwart einer stärkeren Säure ausgeführt werden. Wir wählten dazu zunächst 1 ccm 25proz. Phosphorsäure.

So wurde je 1 g des zu prüfenden Stoffes mit 10 ccm Wasser + 1 ccm Phosphorsäure übergossen, 110 ccm Toluol zugegeben und 100 ccm abdestilliert. Der wässrige Anteil des Destillates wurde dann mit 20 ccm 0,1n-Bromlösung + 5 ccm Natriumacetatlösung $\frac{1}{2}$ Stunde oxydiert, der Überschuß zurücktitriert und das Ergebnis als Ameisensäure berechnet:

Tabelle 13.

Angewandeter Stoff	Verbrauch an Thiosulfatlösung ccm	HCOOH mg
Glucose	4,3	9,9
Fructose	7,1	16,3
Saccharose	6,1	15,6
Milchzucker	5,2	11,9

Bei dieser Destillation entstehen also aus den Kohlenhydraten beträchtliche Mengen Ameisensäure oder ein wie Ameisensäure sich verhaltender Stoff. Es mußte unsere Aufgabe sein, diese Störung durch passend gewählte Versuchsanordnung auszuschließen oder auf ein unbedeutendes Maß zu vermindern.

Um festzustellen, bei welcher Fraktion vorwiegend die störenden Stoffe gebildet werden, und ob es sich wirklich um Ameisensäure oder andere Stoffe handelt, wurde

je 1 g Saccharose mit 1 ccm Phosphorsäure, 10 ccm Wasser und 110 ccm Toluol fraktioniert destilliert. Im wässrigen Anteil des Destillates wurde dann einerseits nach der Quecksilberchloridmethode, andererseits nach der Brommethode, schließlich ebenfalls nach dieser, aber nach vorherigem Abdampfen mit Calciumcarbonat wie bei der Quecksilberchloridmethode auf Ameisensäure geprüft.

Das Ergebnis war folgendes:

Tabelle 14.

Fraktionen ccm	Quecksilberchlorid- Ameisensäure mg	Brommethode Ameisensäure mg	Brommethode nach Abdampfen mit CaCO ₃ Ameisensäure mg
1. Versuch mit Saccharose.			
0—20	0,1	7,1	0,7
20—40	0,1	7,8	2,1
40—60	0,2	11,2	0,9
60—80	0,7	5,8	2,3
80—100	3,4	6,4	3,5
Rückstand	1,8	8,3	3,0
2. Versuch mit Milchsäure.			
0—20	0,5	9,9	1,3
20—40	0,4	15,6	0,5
40—60	0,4	15,2	0,3
60—80	0,5	14,0	0,3
80—100	0,5	6,7	0,8
Rückstand	0,3	3,8	0,8

Das Ergebnis ist in mehrfacher Hinsicht lehrreich. Zunächst fallen die Ergebnisse bei der Quecksilberchloridmethode am gleichmäßigsten und am niedrigsten aus, während die Brommethode sehr hohe und unregelmäßige Werte liefert. Da die Quecksilberchloridmethode die Ameisensäure vollständig erfäßt, müssen also die Störungen bei der Brommethode durch andere Stoffe bedingt sein. Sie wird damit für unseren Zweck wenig geeignet. Die Störungen werden durch die Calciumcarbonatbehandlung stark vermindert, ohne daß aber die Zuverlässigkeit der Quecksilbermethode erreicht wird.

Betrachten wir die Ergebnisse mit dieser Methode etwas näher, so zeigt sich, daß im Falle der Milchsäure nur noch Spuren von Ameisensäure in ungefähr gleichmäßiger Verteilung über alle Fraktionen festgestellt wurden. Bei Saccharose beginnt dagegen die Ameisensäurebildung von etwa 60 ccm Destillat an zunächst wenig, dann stärker in Erscheinung zu treten. Die Ameisensäurebildung erfolgt also erst im letzten Teil der Destillation, parallel gehend mit einer Dunkelfärbung (Caramelisierung) der sich immer mehr konzentrierenden wässrigen Phase im Destillationskolben. Es ist dieselbe Destillationsstufe, auf der die Ameisensäuredestillation stark beschleunigt ist.

Unser nächster Versuch war, dieses kritische Gebiet völlig auszuschalten, indem wir die Destillation vorzeitig bei 60 ccm Destillat abbrechen. Auf diese Weise schien es möglich, unter Verzicht auf eine vollständige Ausbeute, wenigstens zu einem konstanten Anteil zu gelangen.

Grundbedingung für eine solche konstante, wenn auch nicht vollständige Ausbeute ist in erster Linie das Verhältnis zwischen wasserlöslichem und wasserunlöslichem Teil des Destillationsgemisches. Je mehr Wasser vorhanden ist, um so langsamer wird die Ameisensäure überdestillieren. Je weniger Wasser vorliegt, um so schneller werden wir sie im Destillat wiederfinden.

Folgende Tabellen zeigen dies mit Deutlichkeit an:

Tabelle 15.

Destillationsgemisch: 10 ccm Ameisenlösungssäure mit 45,54 mg HCOOH + 100 ccm Toluol + 1 ccm 25proz. Phosphorsäure. Destillat 60 ccm.

Wasserzusatz ccm	Ameisensäurelösung + Wasserzusatz Gesamtvolumen ccm	Titrationswert in $\frac{n}{10}$ -NaOH ccm	Ameisensäure	
			mg	%
0,0	10,0	7,5	34,5	76
5,0	15,0	3,9	17,9	39
10,0	20,0	2,4	11,0	24
15,0	25,0	1,9	8,7	19
20,0	30,0	1,7	7,8	17

Im folgenden Versuch wurden steigende Mengen Ameisensäurelösung zu dem Destillationsgemisch aus 10 ccm Wasser + 1 ccm 25proz. Phosphorsäure + 110 ccm Toluol gegeben und dann 60 ccm abdestilliert. Die Ameisensäurebestimmung erfolgte hier nach der Quecksilberchloridmethode.

Tabelle 16.

Ameisensäurelösung HCOOH		Hg_2Cl_2 g	Ent- sprechend HCOOH mg	Aus- beute %	Ameisensäurelösung HCOOH		Hg_2Cl_2 g	Ent- sprechend HCOOH mg	Aus- beute %
ccm	mg				ccm	mg			
0,5	2,3	0,0155	1,5	66	7,0	31,9	0,1254	12,2	38
1,0	4,6	0,0251	2,5	54	10,0	45,5	0,1573	15,4	34
2,0	13,7	0,0738	7,2	53	12,0	54,6	0,1558	15,2	28
5,0	22,8	0,0961	9,4	41	15,0	68,3	0,1730	16,9	25

Man erkennt deutlich, daß mit der Zunahme des Wasservolumens der überdestillierte Ameisensäureanteil rasch sinkt.

Eine größere Anzahl Versuche wurde nun unter Konstanthaltung der Destillationsmischung (10 ccm Ameisensäurelösung + 1 ccm 25proz. Phosphorsäure + 100 ccm Toluol) ausgeführt, und die Ameisensäure in 60 ccm Destillat nach verschiedenen Methoden bestimmt. Es gelang jedoch auch so nicht, konstante Ausbeuten zu erhalten. So lagen die Schwankungen bei der acidimetrischen Bestimmung zwischen 58—80, bei der Quecksilbermethode zwischen 62—90%.

Darauf wurde noch ein weiteres Destillationsmittel statt Toluol von ähnlichem Siedepunkt erprobt, nämlich zwischen 100—110° siedendes Benzin.

Ein Fraktionierungsversuch, bei dem 220 ccm Benzin und 10 ccm Ameisensäurelösung (= 45,54 mg HCOOH) destilliert wurden, zeigte folgendes Bild:

Tabelle 17.

Fraktionen ccm	Ameisensäure nach der Brommethode			Ameisensäure nach der Quecksilberchlorid- methode		
	in der Fraktion mg	insgesamt mg	Ausbeute %	in der Fraktion mg	insgesamt mg	Ausbeute %
0—40	3,2	3,2	7,0	6,8	6,8	14,9
40—80	8,8	12,0	26,3	7,3	14,1	30,9
80—120	10,4	22,4	49,2	9,8	23,9	52,5
120—160	15,2	37,6	82,6	14,6	38,5	84,7
160—200	5,5	43,1	94,7	4,3	42,8	94,0
Im Kühler	1,8	44,9	98,7	2,2	45,0	99,0

Hiernach eignet sich Benzin vom Siedepunkt 100—110° nicht weniger gut als Toluol zur Ameisensäuredestillation, wenn bis zur Destillatmenge von 200 ccm destilliert wird.

Auch bei Benzin beobachtet man, daß, wie zu erwarten, mit Zunahme des Volumens der wässerigen Phase die Ausbeute an Ameisensäure sinkt, so nach einem Versuch mit 10 ccm Wasser + 220 ccm Benzin + steigende Mengen Ameisensäurelösung, wenn jeweils bis zu 120 ccm Destillat destilliert wurde.

Ameisensäurelösung in ccm	0,5	1,0	3,0	5,0	7,0	10,0	12,0	15,0
Ameisensäure, vorhanden in mg . .	2,3	4,6	13,7	22,8	31,9	45,5	54,6	68,3
Ameisensäure, gefunden in mg . . .	1,3	2,3	6,0	8,6	9,5	12,2	12,5	14,7
Ausbeute in Prozent	57,0	51,0	44,0	38,0	30,0	27,0	23,0	22,0

Aber auch bei Konstanthaltung der Versuchsbedingungen (10 ccm Ameisensäurelösung + 1 ccm 25proz. Phosphorsäure + 220 ccm Benzin, Destillatmenge 120 ccm) schwankte die Ausbeute an Ameisensäure noch beträchtlich.

Wodurch diese Unregelmäßigkeiten beim Destillationsverlauf verursacht sind, dürfte im einzelnen schwer auszumachen sein, weil es sich um Destillation einer löslichen und einer unlöslichen Flüssigkeit handelt und die Destillationsbedingungen je nach Mischung der beiden Komponenten in jedem Augenblick verschiedene sind.

Daß die Destillationsdauer von erheblichem Einfluß ist, zeigen folgende Versuche:

Tabelle 18.

Nr.	Destillationsmittel	Destillationsdauer Min.	Angewendete Ameisensäure mg	Ameisensäure gefunden		
				Titrationwert in $\frac{N}{10}$ ccm	Ameisensäure (HCOOH) mg	Ameisensäure %
1	Benzin, Siedep. 100 bis 110° (Destillatmenge 120 ccm)	7	67,6	8,5	39,1	57,8
2	desgl.	17	67,6	10,7	49,2	72,7
3	Toluol (Destillatmenge 60 ccm)	5	41,4	5,3	24,4	58,9
4	desgl.	10	41,4	5,6	25,8	62,7
5	desgl.	30	41,4	6,9	31,7	76,7
6	desgl.	36	41,4	6,5	29,9	72,2

Bei diesen Versuchen wird also bei einer Destillationsdauer von etwa 30 Minuten die beste Ausbeute erhalten.

Um nun zu entscheiden, ob Toluol oder Benzin als Destillationsmittel vorzuziehen ist, wurden noch folgende Versuche ausgeführt:

Tabelle 19.

Destillationsmittel	Menge ccm	Destillatmenge ccm	Phosphorsäurezusatz ccm	Angewendete Ameisensäure		Gefundene Ameisensäure		
				ccm-Lösung	mg	Titrationwert in $\frac{N}{10}$ ccm	mg	%
Toluol	100	60	1	10	45,5	7,5	34,5	75,7
„	200	120	2	20	91,1	15,8	72,7	79,8
„	300	180	3	30	136,6	23,6	108,6	79,5
Benzin	200	120	1	10	45,5	9,4	43,2	94,5
„	400	240	2	20	82,8	15,8	72,7	87,8
„	600	360	3	30	124,2	25,2	115,9	93,3

Hiernach ist Benzin überlegen, weil es die höhere Ausbeute geliefert hat. Sein weiterer Vorzug in praktischer Hinsicht ist seine geringere Neigung, Emulsionen zu bilden.

Aus den Versuchen ergab sich somit folgende vorläufige Arbeitsvorschrift zur Bestimmung der Ameisensäure.

5 ccm der die Ameisensäure enthaltenden wässerigen Lösung¹ werden in einem 300 ccm Stehkolben mit 1 ccm 25proz. Phosphorsäure und 150 ccm Benzin vom Siedep. 100—110° vorsichtig destilliert, bis 130 ccm in eine mit 10 ccm Wasser beschickte Vorlage übergegangen sind. Nach der Destillation wird der Kühler mit 10 ccm destilliertem Wasser nachgespült und die wässerige Phase von der Benzinphase in einem Scheidetrichter abgetrennt und in einer Glasschale von 7 cm Durchmesser gesammelt. Die Benzinphase wird dann noch einmal mit 10 ccm Wasser ausgewaschen. Man bringt nun die wässerige Phase mit der Waschflüssigkeit in eine Glasschale von 7 cm Durchmesser, fügt etwa 1 g Calciumcarbonat hinzu und verdampft auf dem Wasserbade zur Trockne.

Der Trockenrückstand wird mit Wasser aufgenommen und der Auszug in ein großes Probeglas von 18 cm Länge und 2,5 cm Durchmesser filtriert. Man fügt 15 ccm Quecksilberchloridlösung² hinzu und erhitzt eine Stunde lang im kochenden Wasserbad.

Nun saugt man die Flüssigkeit durch einen gewogenen Glasfiltertiegel (10 G 3 von Schott u. Gen., Jena) und wäscht den Niederschlag mit Wasser nach. Man trocknet eine Stunde lang im Trockenschrank und wägt. Aus dem erhaltenen Gewicht für den Niederschlag berechnet sich die Ameisensäure (HCOOH) mit dem Faktor 0,0975.

2. Destillationsversuche mit Formiaten in Gegenwart stärkeren Säuren als Ameisensäure.

Bei den ersten Versuchen wurde zur Freimachung der Ameisensäure aus ihren Salzen Phosphorsäure verwendet, die aber folgenden Nachteil zeigte: Im Verlaufe der Destillation wird durch das Überdestillieren des Wassers die wässerige, die Phosphorsäure enthaltende Phase immer konzentrierter, damit auch die Phosphorsäurekonzentration darin immer höher, wodurch schließlich ein Angriff auf die Begleitstoffe, insbesondere auf begleitende Kohlenhydrate unter Caramelbildung und chemischer Abspaltung von Ameisensäure oder Ameisensäure vortäuschender Stoffe in stark erhöhtem Maße eintritt.

Durch vorzeitige Abbrechung der Destillation ist es zwar möglich, diese Störung praktisch auszuschließen; dann ist es aber schwierig, die Versuchsbedingungen bei einfacher Versuchsanordnung so zu regeln, daß die Ameisensäureausbeute ausreichend konstant wird, wie im vorigen Abschnitt gezeigt wurde.

Um diese Anreicherung der in Toluol oder Benzin unlöslichen Phosphorsäure in der wässerigen Phase zu verhindern, wurden weitere Versuche mit organischen Säuren vorgenommen, die entweder bei einer gewissen Konzentration sich unlöslich ausscheiden oder in die organische Phase übergehen. Da diese Säuren bei der ziemlich hohen Dissoziationskonstante der Ameisensäure, die nach Kolthoff 2×10^{-4} beträgt, ebenfalls starke, noch stärkere Säuren als Ameisensäure, sein müssen und an sich nicht durch Nebenreaktionen stören dürfen, ist die Auswahl unter geeigneten Säuren nicht groß.

Als Destillationsmittel verwendeten wir bei den folgenden Versuchen Benzin vom Siedep. 100—110°, im folgenden kurz „Benzin“ genannt. Um nochmals festzustellen, mit welchen Mengenverhältnissen die besten Ausbeuten erhalten werden, wurden zu-

¹ Im Falle größerer Mengen Ameisensäurelösung untersucht werden sollen, sind bei der Destillation auch die Menge der Zusätze und des Destillates entsprechend zu erhöhen.

² Die Quecksilberchloridlösung wird nach Zäch [Mitt. Lebensmittelunters. 24, 35 (1933)] wie folgt bereitet: Quecksilberchlorid 10 g, Natriumchlorid 4 g, kristallisiertes Natriumacetat 10 g werden mit destilliertem Wasser auf 100 ccm aufgefüllt. Man stellt dann den Kolben eine Stunde lang in ein siedendes Wasserbad, läßt abkühlen und filtriert durch ein Faltenfilter.

nächst 5 ccm Ameisensäurelösung mit 101,7 mg HCOOH, 1 ccm Phosphorsäure und variierte Mengen Benzin destilliert und verschiedene Destillatmengen aufgefangen:

Tabelle 20.

Menge Benzin ccm	Menge Destillat ccm	Ameisensäure, gefunden		
		Titrationwert in $\frac{n}{10}$ -Natronlauge ccm	Ameisensäure (HCOOH) mg	Ameisensäure %
120	100	21,1	97,1	95,5
120	100	21,2	97,5	95,9
150	130	21,7	99,8	98,2
150	130	21,5	98,9	97,3
150	140	21,6	99,4	97,7
150	150	21,7	99,8	98,2
175	160	21,6	99,4	97,7
175	175	21,6	99,4	97,7

Hiernach liefert Anwendung von etwa 150 ccm Benzin auf 5 ccm Ameisensäurelösung bei 130 ccm Destillat eine praktisch ebenso hohe Ausbeute wie eine größere Menge. Dieses Ergebnis wurde bei den folgenden Versuchen zugrunde gelegt.

Nach Literaturangaben¹ besitzen folgende organische Säuren höhere Dissoziationskonstanten bei 25° als Ameisensäure:

Säure	Dissoziationskonstante
Monochloressigsäure	$15,5 \times 10^{-4}$
Dichloressigsäure	$514,0 \times 10^{-4}$
Trichloressigsäure	$950,0 \times 10^{-4}$
Phthalsäure, 1. Stufe	$12,1 \times 10^{-4}$
Salicylsäure	$10,2 \times 10^{-4}$
Malonsäure, 1. Stufe	$13,6-17,1 \times 10^{-4}$
Weinsäure, 1. Stufe	$9,7-10,2 \times 10^{-4}$
Phosphorsäure, 1. Stufe*	$110,0 \times 10^{-4}$

* Nach Kolthoff, Der Gebrauch von Farbindicatoren.

Hiernach müssen also alle diese Säuren imstande sein, Formiate zu zersetzen.

Es fragt sich zunächst, in welchem Maße sie im Vergleich zu Phosphorsäure durch Zersetzung von Zucker Ameisensäure vortäuschen können. Zu dem Zwecke wurden die in der Tab. 21 angegebenen Säuremengen mit 0,5 g Saccharose + 5 ccm Wasser + 150 ccm Benzin destilliert, bis 130 ccm übergegangen waren. Das Destillat wurde dann wie bisher aufgearbeitet und die Ameisensäure darin mit Quecksilberchlorid ermittelt. Das Ergebnis war folgendes (s. Tab. 21).

Die Tabelle läßt deutlich erkennen, daß durch Anwendung der organischen Säuren statt Phosphorsäure, die Saccharosezersetzung stark vermindert ist. Abgesehen von Di- und Trichloressigsäure erreicht die gebildete Ameisensäure nur in einem Falle, nämlich mit 1 g Monochloressigsäure etwas über 1 mg, in den anderen Fällen nur Bruchteile davon.

Über die Ameisensäureausbeute bei der Destillation geben folgende Zahlen Auskunft, die mit 5 ccm wässriger Ameisensäurelösung, die 101,0 mg Ameisensäure enthielten, erhalten wurden.

¹ Beilsteins Handbuch der organischen Chemie.

Tabelle 21.

Säure	Formel	Molekulargewicht	Angewendete Menge g	Ameisensäure, gefunden mg	
Monochloressigsäure	} $\text{CH}_2\text{Cl} \cdot \text{COOH}$	94	0,3	0,4	
„			1,0	1,2	
Dichloressigsäure	} $\text{CHCl}_2 \cdot \text{COOH}$	129	0,5	2,6	
„			1,0	3,6	
Trichloressigsäure	} $\text{CCl}_3 \cdot \text{COOH}$	180	0,3	0,8	
„			1,0	3,0	
Phthalsäure	} $\text{C}_6\text{H}_4(\text{COOH})_2$	166	0,5	0,9	
„			1,0	0,5	
Salicylsäure	} $\text{C}_6\text{H}_3(\text{OH})\text{COOH}$	138	0,4	0,3	
Malonsäure			$\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_4$	0,3	0,2
Weinsäure			$\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$	0,4	0,7
Phosphorsäure			} H_3PO_4	82	1,0
Dgl. ohne Wasserzusatz	1,0	11,2			

Tabelle 22.

Art der Säure	Zuge- setzte Menge	Ameisensäure, gefunden			Art der Säure	Zuge- setzte Menge	Ameisensäure, gefunden		
		Hg_2Cl_2 g	HCOOH				Hg_2Cl_2 g	HCOOH	
			mg	%				mg	%
Monochloressig- säure	1 g	0,9397	91,6	90,7	Trichloressigsäure	2 g	0,9350	91,2	90,3
	2 g	0,9365	91,3	90,4		Phthalsäure	1 g	0,9209	89,8
Dichloressigsäure	1 ccm	0,9105	88,8	87,9	„	2 g	0,9109	88,8	87,9
	2 ccm	0,9590	93,5	92,5	Malonsäure	1 g	0,9579	93,4	92,4
Trichloressigsäure	1 g	0,8825	86,0	85,2	„	2 g	0,9674	94,3	94,4

Die Ausbeuten bewegen sich somit um etwa 90% und sind am gleichmäßigsten bei Monochloressigsäure und Phthalsäure. Bei Dichloressigsäure und Trichloressigsäure ist trotz des höheren Dissoziationsgrades keine Ausbeuteerhöhung zu verzeichnen, was vielleicht mit einer erhöhten Löslichkeit in Benzin zusammenhängt, wie umgekehrt die Unlöslichkeit der Malonsäure darin die Ausbeute etwas erhöht hat.

Die nächste Tabelle gibt Versuche wieder, bei denen je 1 g Saccharose, 5 ccm Ameisensäure als Natriumformiat und 150 ccm Benzin bis zur Destillatmenge von 130 ccm destilliert wurden:

Tabelle 23.

Art der Säure	Ameisensäure, gefunden		
	Hg_2Cl_2 g	HCOOH	
		mg	%
Monochloressigsäure	0,9126	88,9	88,1
Dichloressigsäure	0,9256	90,2	89,1
Trichloressigsäure	0,8719	85,0	84,2
Malonsäure	0,9114	88,9	88,0
Phthalsäure	0,8301	80,9	80,1

Diese Versuche wurden nun noch durch folgende ergänzt, bei denen steigende Mengen der Säuren mit 5 ccm mit Natronlauge gegen Phenolphthalein neutralisierter Ameisensäurelösung mit 150 ccm Benzin destilliert und 130 ccm Destillatmenge verarbeitet wurden. Die 5 ccm Ameisensäurelösung enthielten 110,9 mg HCOOH.

Tabelle 24.

Art des Ansäuerungsmittels	Ameisensäure gefunden bei Anwendung der Menge Ansäuerungsmittel							
	0,5 g		1,0 g		1,5 g		2,0 g	
	mg	%	mg	%	mg	%	mg	%
Monochloressigsäure	88,6	81,2	99,5	91,3	87,4	85,8	—	—
Dichloressigsäure (D. 1,575)	85,7	85,4	91,5	91,2	89,9	89,6	92,7	92,3
Trichloressigsäure	53,4	48,9	82,1	74,0	98,4	88,8	99,3	91,1
Phthalsäure	93,5	85,8	97,9	89,8	99,2	90,9	99,2	91,0
Malonsäure	98,3	90,2	96,5	87,1	100,3	90,5	101,3	92,0

Anwendung größerer Mengen Saccharose in Wasser, ohne Zusatz von Ameisensäure führte zu den in der folgenden Tabelle angegebenen Werten. Hierbei wurden je 1 oder 2 g der Säuren mit 5 ccm Wasser und 150 ccm Benzin destilliert und das Destillat, wie oben S. 13 beschrieben, auf Bestimmung der Ameisensäure verarbeitet.

Tabelle 25.

Art der Säure	Saccharosezusatz					
	1,0 g		2,0 g		3,0 g	
	Säuremenge					
	1 g	2 g	1 g	2 g	1 g	2 g
Ameisensäure in Milligrammen						
Monochloressigsäure	7,0	5,1	10,9	7,5	—	8,7
Trichloressigsäure	3,6	5,6	—	10,3	3,8	19,3
Phthalsäure	2,8	0,1	1,0	0,1	0,4	0,4

Von Ameisensäure wurden in Gegenwart von Saccharose wiedergefunden:

Saccharose	0,5	1,0	1,5	2,0
Ameisensäure	87,4	89,9	87,9	88,8 mg
entsprechend	86,5	89,0	87,0	87,9%

Aus den vorstehenden teilweise etwas unregelmäßig ausgefallenen Versuchen geht hervor, daß größere Mengen Saccharose auch bei den genannten Säuren noch nachweisbare Mengen Ameisensäure liefern. Andererseits fällt die Ausbeute an Ameisensäure bei unserer Versuchsanordnung ziemlich konstant aus und beträgt etwa 90%.

Von den geprüften Säuren zogen wir Monochloressigsäure vor, weil sie die preiswerteste ist und ihre Löslichkeit in Wasser/Benzin so liegt, daß eine übermäßige Anreicherung im Rückstand nicht eintritt. Eine etwas bessere Ausbeute liefert Malonsäure, die aber ziemlich hoch im Preise steht.

3. Ausarbeitung eines besonderen Destillationsverfahrens.

Für die Destillation der Ameisensäure bei unserer Versuchsanordnung ist wie gezeigt (vgl. S. 5) eigenartig, daß die Konzentration der Ameisensäure in dem wässrigen Anteil der Destillationsmischung mit dem Fortschreiten des Destillationsvorganges immer mehr ansteigt. Die am Schluß in jedem Augenblick übergehenden Anteile an Ameisensäure sind also, bezogen auf die übergehende Wassermenge, besonders hoch und damit der Gefahr einer Verflüchtigung oder anderen Störungen ausgesetzt. Darauf beruht die Ungleichmäßigkeit und Ungenauigkeit unserer bisherigen Ergebnisse, wenn wir nur einen Anteil und nicht das ganze Destillat auffangen.

Beim Arbeiten mit Monochloressigsäure wird, wie gezeigt wurde, die Caramelisierung eingeschränkt. Diese Säure ist aber ihrerseits wieder mit Benzin teilweise flüchtig und verunreinigt dann die Ameisensäure im Destillat. Auch wird der überdestillierende Anteil für die Zersetzung der Formiatlösung unwirksam, während Phosphorsäure immerhin den Vorteil der Nichtflüchtigkeit hat. Diese Umstände gaben Veranlassung zu weiteren Versuchen, die Destillation so zu lenken, daß eine möglichst vollständige Destillation erhalten, aber die Destillation spätestens in dem Augenblick abgebrochen wurde, in dem die erste Bildung von Ameisensäure aus Zucker einsetzt. Da ferner die Caramelisation bei Phosphorsäure am stärksten auftritt, bei den anderen Säuren weniger, würde ein Erfolg bei diesen Versuchen in erhöhtem Maße für die anderen Säuren zutreffen.

Wie schon Fincke beobachtet hat, hängt die Ameisensäurebildung aus Zucker bei der Wasserdampfdestillation in Gegenwart von Säuren mit der Caramelisierung zusammen. Wir fanden bei unserer Versuchsanordnung, daß diese Caramelisierung immer erst am Schluß der Behandlung, also dann einsetzt, wenn die Säurekonzentration in der wässrigen Phase eine bestimmte Grenze überschritten hatte. Weiter wurde aber noch gefunden, daß die Gelb- oder Braunfärbung im Destillationskolben nicht gleichmäßig verteilt, sondern örtlich beschränkt war, besonders deutlich in der Nähe der Spitze der Heizflamme. Obgleich das hier verwendete Destillationsmittel (Benzin) einen Siedepunkt von nur 90—100° hatte, mußte also an dieser Stelle die Temperatur höher gestiegen sein. Dies führte zunächst auf den Gedanken, durch bessere Regelung der Heiztemperatur, nämlich durch Eintauchen des Kolbens in eine Heizflüssigkeit, die Ameisensäurebildung aus Zucker zu verhüten.

Wir versuchten einige Destillationen aus einem Glycerinbad von 135—140°. Destilliert wurde jeweils, bis das Destillat nicht mehr trübe war, also keine Wassertröpfchen mehr enthielt. Dies dauerte etwa 30 Minuten. In der Tat wurde so die Bildung von Ameisensäure stark zurückgedrängt, wie folgende Versuche zeigen; bei diesen wurde je 1 g Saccharose, 1 ccm 25proz. Phosphorsäure, 5 ccm Wasser und 150 ccm Destillationsmittel destilliert. Das Ergebnis war folgendes:

Tabelle 26.

Destillationsmittel (Siedepunkt)	Gefundene Menge Ameisensäure			
	Erhitzung auf freier Flamme		Erhitzung im Glycerinbad	
	Hg ₂ Cl ₂ mg	HCOOH mg	Hg ₂ Cl ₂ mg	HCOOH mg
Benzin, 80—90° . . .	124,0	12,1	0,3	0,03
„ 90—100° . . .	123,0	12,0	6,5	0,64
„ 100—110° . . .	133,5	13,0	8,1	0,79

Überraschenderweise war also beim Erhitzen mit freier Flamme die Ameisensäurebildung aus Zucker durch örtliche Überhitzung, nicht etwa durch die Versuchsnotwendigkeit eingetreten.

Nun wurde untersucht, welchen Einfluß die Menge des vorhandenen Zuckers auf die Menge der gebildeten Ameisensäure hat. Dazu wurden verschiedene Mengen Saccharose wie oben mit je 1 ccm Phosphorsäure aus dem Glycerinbad destilliert. Es war zu vermuten, daß größere Mengen Zucker auch größere Mengen Ameisensäure liefern würden. Der Versuch ergab das Gegenteil.

Tabelle 27.

Einwaage an Saccharose g	Wasserzusatz ccm	Gefundene Ameisensäure	
		Hg ₂ Cl ₂ mg	HCOOH mg
0,5	5,0	25,0	2,44
1,0	5,0	6,4	0,63
1,5	5,0	4,0	0,39
0,5	10,0	31,0	3,02

Die Erklärung ist wahrscheinlich folgende: Je kleiner das Volumen der wässrigen Phase am Ende der Destillation ist, um so mehr konzentriert sich die Phosphorsäure, und um so größer ist die Bildung von Ameisensäure. Das Volumen ist aber um so größer, je mehr Zucker vorhanden ist, weil dieser dann einen bedeutenden Teil des Endvolumens ausmacht.

So günstig indes das Ergebnis mit der Anwendung des Glycerinbades auch war, so schien es doch nützlich, nach einer anderen Behebung der Schwierigkeit zu suchen. Denn das Glycerinbad hat in der praktischen Anwendung auch die bekannten Unannehmlichkeiten (Rauchbildung, Verschmieren des Arbeitsplatzes). Das Glycerin wird zudem schnell dunkel gefärbt, wodurch die Beobachtung des Destillationsvorganges erschwert ist. Dies ist aber gerade für den weiteren Ausbau unseres Verfahrens von Nachteil, wenn wir nämlich die Destillation in dem Augenblick abbrechen wollen, in dem die Caramelisierung eben beginnt.

Wir versuchten daher, ohne Glycerinbad auszukommen und benutzten dazu folgende Arbeitsweise.

5 ccm Wasser + 1 g Saccharose + Säurezusatz + 150 ccm Benzin wurden destilliert. Sobald 4 ccm Wasser im Destillat angesammelt waren, wurden zum Rückstand wieder 5 ccm Wasser gegeben, diese wieder abdestilliert, nochmals 5 ccm zugegeben und wieder abdestilliert. Dann wurde die Wasser-Phase abgetrennt und die Ameisensäure nach der gewöhnlichen Methode bestimmt.

Auch so wurde ein günstiges Ergebnis erhalten:

Tabelle 28.

Benutzte Säure	Destillationsmittel	Gefundene Ameisensäure	
		Hg ₂ Cl ₂ g	HCOOH mg
1 ccm Phosphorsäure	Benzin, 80—90°	0,0011	0,11
1 g Monochloressigsäure	„ , 80—90°	0,0075	0,73
1 ccm Phosphorsäure	„ , 90—100°	0,0028	0,29
1 g Monochloressigsäure	„ , 90—100°	0,0118	0,15
1 ccm Phosphorsäure	„ , 100—110°	0,0031	0,30
1 g Monochloressigsäure	„ , 100—110°	0,0069	0,67

Die Werte sind für Phosphorsäure ebenso günstig wie für Monochloressigsäure. Bei weiteren Versuchen wurde der Zusatz von 5 ccm Wasser noch einmal mehr, also dreimal wiederholt und so mit verschiedenen Mengen Saccharose, 1 ccm verdünnter Phosphorsäure + 5 ccm Wasser + 150 ccm Benzin vom Siedep. 80—90° folgendes gefunden:

Tabelle 29.

Saccharose g	Gefundene Menge Ameisensäure	
	Hg ₂ Cl ₂ mg	HCOOH mg
0,5	3,1	0,3
1,0	1,2	0,1
1,5	1,8	0,2

Hiernach läßt sich also die Ameisensäurebildung aus Zucker ganz zuverlässig bis auf unbedeutende Reste verhindern.

Zu den weiteren Versuchen diente der in Abb. 3 dargestellte aus Jenaer Geräteglas angefertigte Apparat¹.

Dieser besteht zunächst aus einem Erlenmeyerkolben mit Normalschliff als Destillationskolben und einem Destillationsrohr, das die Dämpfe zu einem Einhängekühler führt. Das sich dabei abscheidende und die Ameisensäure enthaltende Wasser tropft in ein Meßrohr, aus dem unten die wässrige Phase durch einen Hahn abgelassen werden kann. Andererseits fließt der Überschuß des abdestillierten und wieder kondensierten Benzins während des Destillationsvorganges stetig durch das weit gehaltene Destillationsrohr zurück, und zwar derart, daß immer nur die Oberfläche des Destillates abläuft, nicht etwa die unteren noch ameisensäurehaltigen Schichten. Zwecks Nachfüllens der Wassermengen trägt das Destillationsrohr im oberen Teil eingeschmolzen ein Meßröhrchen mit Hahn, aus dem nach Belieben Wasser eingefüllt werden kann, ohne die Destillation zu unterbrechen. Durch Anwendung dieses Apparates wird die sonst langwierige und lästige, mehrmals unterbrochene Destillation zu einer einfachen und bequemen Arbeitsweise. Außerdem trägt der Fortfall der Unterbrechungen zur Vermeidung von Ameisensäureverlusten bei.

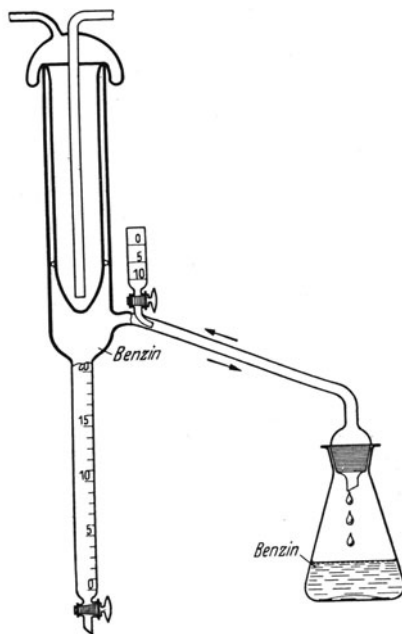


Abb. 3. Apparat zur Ameisensäurebestimmung nach R. Payfer.

Nun war festzustellen, in welcher Ausbeute vorhandene Ameisensäure nach dieser neuen Versuchsanordnung wiedergefunden wird.

Bei dem folgenden Versuch wurde eine Ameisensäurelösung, die in 5 ccm 23,31 mg HCOOH enthielt, verwendet. 5 ccm davon wurden mit 150 ccm Benzin vom Siedepunkt 90—100° unter dreimaligem Zusatz von je 5 ccm Wasser mit folgendem Ergebnis destilliert:

Tabelle 30.

Volumen der Fraktionen ccm	Gefundene Menge Ameisensäure		
	HCOOH mg	Ausbeute an HCOOH	
		in der Fraktion %	insgesamt %
0—4	13,34	57,2	57,2
4—9	6,44	27,6	84,8
9—14	2,76	11,8	96,7
14—19	0,00	0,0	96,7
Nachspülflüssigkeit	0,92	3,9	100,6

Die Ameisensäure ist also quantitativ überdestilliert. Ein ähnlicher Versuch mit Natriumformiatlösung, von der 5 ccm, die 24,30 mg HCOOH enthielten, mit 1 ccm verdünnter Phosphorsäure und 150 ccm Benzin vom Siedep. 90—100° unter dreimaligem Zusatz von je 5 ccm Wasser destilliert wurden, lieferte folgendes Bild:

¹ Hersteller: A. Zoberbier, Berlin N 65, Chausseest. 88.

Tabelle 31.

Volumen der Fraktionen ccm	Gefundene Menge Ameisensäure			
	Hg ₂ Cl ₂ mg	HCOOH mg	Ausbeute an HCOOH	
			in der Fraktion %	insgesamt %
0—4	107,2	10,45	43,0	43,0
4—8	60,4	5,89	24,2	67,2
8—13	32,1	3,13	12,9	80,1
13—18	14,9	1,45	6,0	86,1
18—20	8,4	0,82	3,4	89,5
Nachspülflüssigkeit	10,4	1,02	4,2	93,7

Hier finden wir einen geringen Verlust an Ameisensäure, vermutlich dadurch bedingt, daß die zur Zersetzung des Formiats zugesetzte Phosphorsäure etwas Ameisensäure zurückhält. Ein besonderer Versuch, bei dem 5 ccm einer Ameisensäurelösung mit verschiedenen Mengen Phosphorsäure und einem etwas niedriger siedenden Benzin (80—90°) in im übrigen gleicher Versuchsanordnung wie vorhin destilliert wurden, deutete ebenfalls in diese Richtung.

Tabelle 32.

Zugesetzte Menge verdünnte Phosphorsäure ccm	Gefundene Menge Ameisensäure				
	Hg ₂ Cl ₂ mg	HCOOH		Verlust	
		mg	%	mg	%
0	226,6	22,00	97,2	0,63	2,8
1	223,0	21,71	95,9	0,92	4,1
2	214,2	20,89	92,3	1,74	7,7

Vorhandene Menge Ameisensäure in 5 ccm = 22,63 mg COOH.

Wir sehen mit erhöhtem Phosphorsäurezusatz ein Ansteigen des Verlustes.

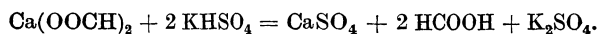
Verwendet man statt Phosphorsäure Monochloressigsäure, so beobachtet man die gleiche Erscheinung, wie folgende Versuche zeigen:

Tabelle 33.

Art und Menge des Säurezusatzes	Gefundene Menge Ameisensäure			Art und Menge des Säurezusatzes	Gefundene Menge Ameisensäure		
	Hg ₂ Cl ₂ mg	HCOOH			Hg ₂ Cl ₂ mg	HCOOH	
		mg	%			mg	%
1 ccm verd. Phosphorsäure	222,2	21,67	96,2	1 g Monochloressigsäure	227,4	22,17	98,4
2 ccm verd. Phosphorsäure	215,8	21,04	93,4	2 g Monochloressigsäure	207,2	20,20	89,7
3 ccm verd. Phosphorsäure	214,4	20,91	92,4	3 g Monochloressigsäure	187,9	18,32	81,3

Verwendet: 5 ccm Natriumformitlösung = 22,52 mg HCOOH.

Von weiteren Ansäuerungsmitteln haben wir noch Kaliumbisulfat geprüft, das sich mit Calciumformiat, nämlich dem Salze der Ameisensäure, das bei unserer späteren Arbeitsvorschrift (S. 25) anfällt, wie folgt umsetzt:



Das Ergebnis war folgendes (Tab. 34).

Die vorstehenden Versuche deuten an, daß auch bei der mehrmals wiederholten Destillation noch ein kleiner Rest von Ameisensäure im Destillationskolben, gebunden an die aus dem Ansäuerungsmittel entstandenen Salze zurückbleibt. Dem absoluten

Tabelle 34.
5 ccm NaCOOH + 150 ccm Benzin (80—90°).

Kaliumbisulfat in g	Gefundene Menge Ameisensäure				
	Hg ₂ Cl ₂ g	HCOOH		Verlust	
		mg	%	mg	%
1,0	0,2194	21,39	95,0	1,1	5,0
1,5	0,2200	21,45	95,2	1,1	4,8

5 ccm NaCOOH-Lösung = 22,52 mg HCOOH.

Kaliumbisulfat zeigt also gegenüber Phosphorsäure keine Überlegenheit.

Betrage nach ist diese Menge sehr klein, etwa 1 mg oder darunter. Um festzustellen, ob dieser Verlust zur Menge des vorhandenen Formiats in Beziehung steht, wurde noch folgender Versuch mit einer größeren Menge Ameisensäure ausgeführt.

Tabelle 35.
5 ccm HCOOH + 1 H₃PO₄ + 150 ccm Benzin (80—90°).

Fraktionen in ccm	Gefundene Ameisensäure			
	Hg ₂ Cl ₂ g	HCOOH mg	Ausbeute	
			in der Fraktion %	insgesamt %
0—4	0,4397	42,87	43,0	43,0
4—9	0,3299	32,17	32,3	75,3
9—14	0,1185	11,54	11,6	86,9
14—20	0,0614	5,99	6,0	92,9
Nachspülflüssigkeit	0,0381	3,72	3,7	96,6

Hierbei sind 3,3 mg = 3,4% zurückgeblieben. Somit wird man allgemein damit rechnen können, daß bei Destillationen von Formiaten mit Phosphorsäure und Benzin ein kleiner Anteil der Ameisensäure, im Mittel rund 3%, bei unserer Versuchsanordnung der Destillation entgehen. In besonderen Fällen kann man diesen Verlust durch Rechnung berücksichtigen. Für gewöhnliche Zwecke kann man ihn wegen seiner Geringfügigkeit vernachlässigen.

4. Abscheidung von Ameisensäure durch Perforation.

Die im vorhergehenden Teil ausgearbeitete Methode zur Ameisensäurebestimmung bezieht sich auf verhältnismäßig kleine Substanzmengen von 5 oder 10 ccm wässrige Lösung mit bis zu etwa 1 g Zuckergehalt. Nach der gleichen Methode lassen sich sinngemäß auch größere Flüssigkeitsmengen verarbeiten, doch darf dann die gesamte Substanzmenge nicht wesentlich mehr als 1 g Zucker oder Extrakt enthalten. Wäre dies der Fall, so müßte man mit erhöhten Verlusten rechnen, indem dann bei der Destillation mehr Rückstand und damit mehr Ameisensäure im Rückstand bliebe.

Nun gibt es eine Anzahl Lebensmittel, bei denen natürlich vorhandene oder zugesetzte Ameisensäure im Verhältnis zum vorhandenen Zucker sehr klein ist. Dahin gehören als wichtigste Honige, Kunsthonige, Fruchtsirupe. Wenn man diese nach der beschriebenen Methode prüfen wollte, könnte entsprechend ihrem hohen Zuckergehalt nur etwa 1—2 g der Destillation unterworfen werden. In dieser Menge ist aber der gewöhnlich vorkommende Ameisensäuregehalt so klein, daß eine ausreichende Genauigkeit nicht mehr erzielbar ist. Aus diesem Grunde empfiehlt sich eine vorherige Trennung der Ameisensäure von dem vorhandenen Zucker.

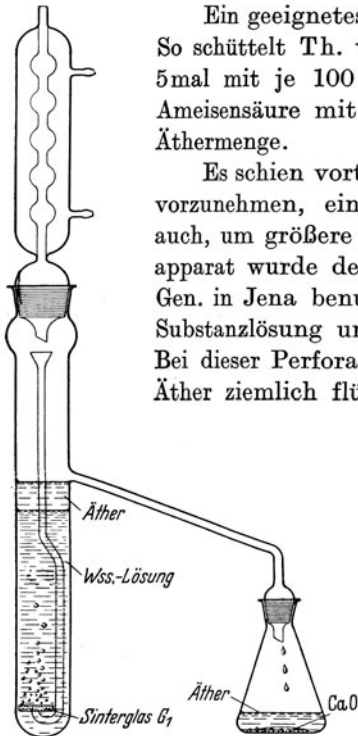


Abb. 4. Perforation von Ameisensäure.

Ein geeignetes Trennungsmittel für Ameisensäure und Zucker ist Äther. So schüttelt Th. v. Fellenberg¹ 20 ccm Fruchtsaft im Scheidetrichter 5mal mit je 100 ccm Äther aus und entzieht dann der Ätherlösung die Ameisensäure mit Äther. Dieser Versuch erfordert naturgemäß eine große Äthermenge.

Es schien vorteilhafter, die Behandlung mittels eines Perforierapparates vorzunehmen, einerseits um die Äthermenge zu verringern, dann aber auch, um größere Substanzmengen verarbeiten zu können. Als Perforierapparat wurde der in Abb. 4 abgebildete Perforator der Firma Schott u. Gen. in Jena benutzt. Mit diesem ließen sich bequem 250 ccm und mehr Substanzlösung unter Verwendung von nur etwa 75 ccm Äther ausziehen. Bei dieser Perforation ist zu beachten, daß wasserfreie Ameisensäure mit Äther ziemlich flüchtig ist. Um Verluste zu verhindern, muß also die

je-
weils ausgezogene Säure baldmöglichst in ein Salz
verwandelt werden. Am einfachsten erreicht man
dies durch Zugabe von Alkalien in den Destillations-
kolben. Zum Anheizen des Kolbens diente ein elek-
trischer Heizkörper. Da es von Bedeutung ist, daß
in einer bestimmten Zeit möglichst viel Äther die
Lösung durchwandert, wurde immer so stark im
Sieden gehalten, wie es der Apparat, insbesondere
die Kühlung gestatteten. Die Ameisensäurebestim-
mung erfolgte nach dem Quecksilberchloridverfahren.
So wurden folgende Ergebnisse mit einer Lösung
von 97,19 mg HCOOH in 100 ccm erhalten:

Tabelle 36.

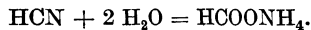
Art der Versuchsanordnung	Ausbeute (%) an Ameisensäure bei einer Perforationsdauer in Stunden				
	1	2	3	4	5
100 ccm Formiatlösung + 5 ccm verd. Schwefelsäure (1+3) + 160 ccm Wasser mit Calciumcarbonat in der Vorlage	56,4	74,9	—	—	96,3
100 ccm Formiatlösung + 5 ccm verd. Schwefelsäure + 165 ccm Wasser mit Normalnatronlauge in der Vorlage	65,8	89,9	96,3	98,5	—
100 ccm Formiatlösung + 10 ccm verd. Schwefelsäure + 160 ccm Wasser mit 3 ccm Normalnatronlauge in der Vorlage	50,9	79,4	90,9	98,1	100,1
100 ccm Formiatlösung + 10 ccm verd. Schwefelsäure + 160 ccm Wasser mit Calciumoxyd in der Vorlage	—	—	—	—	99,3
Dgl. mit Magnesiumoxyd in der Vorlage	—	—	—	—	97,4

Nach diesen Versuchen erhält man mit Vorlage von Natronlauge oder Calciumoxyd in 5 Stunden vollständige Ausbeuten, nicht ganz mit Magnesiumoxyd und Calciumcarbonat. Offenbar reagieren diese wegen ihrer schwächeren Alkalität zu langsam auf die in Äther gelöste Ameisensäure, so daß immer wieder ein Teil derselben zurückdestillieren kann. Der Natronlauge ist Calciumhydroxyd vorzuziehen, weil der Überschuß daran schwerlöslich ist und sich so leichter wieder entfernen läßt.

¹ Th. v. Fellenberg, Mitt. Lebensmittelunters. u. Hygiene 27, 182 (1936).

Ein Haupterfordernis für den guten Verlauf der Perforation einer Lösung von Naturstoffen ist die Vermeidung von Emulsionsbildungen. Emulsionen werden in der Regel durch hydrophile Kolloide hervorgerufen. Unter diesen sind Eiweißstoffe am häufigsten die Ursache. Auch Pektinstoffe können so stören. Um diese Schwierigkeiten zu vermeiden, sind vor der Perforation diese Kolloide sorgfältig zu entfernen. Ein bewährtes Mittel dazu ist die Klärung nach C. Carrez¹ mit Kaliumferrocyanid und Zinksulfat, deren Wirkung wahrscheinlich auf Adsorption der Kolloide durch den Zinkferrocyanidniederschlag in Verbindung mit der Fällungswirkung löslicher Zinksalze beruht.

Gewisse Bedenken gegen die Anwendung dieser Methode auf den vorliegenden Fall könnten aus der Überlegung abgeleitet werden, daß Kaliumferrocyanid in saurer Lösung kleine Mengen Cyanwasserstoff abspalten kann und daß daraus durch Hydrolyse Ammoniumformiat entstehen könnte, gemäß der Gleichung:



Um dies zu prüfen, wurden 250 ccm einer Säurelösung mit je 5 ccm Kaliumferrocyanid- und Zinksulfatlösung geklärt, am folgenden Tage filtriert und das Filtrat 5 Stunden lang der Perforation mit Vorlage von Calciumoxyd unterworfen. Die Ergebnisse bringt folgende Tabelle:

Tabelle 37.

Art und Menge des Säurezusatzes		Gefunden an Ameisensäure		Art und Menge des Säurezusatzes		Gefunden an Ameisensäure	
H ₂ SO ₄ ccm	H ₃ PO ₄ ccm	Hg ₂ Cl ₂ mg	HCOOH mg	H ₂ SO ₄ ccm	H ₃ PO ₄ ccm	Hg ₂ Cl ₂ mg	HCOOH mg
—	—	2,0	0,20*	—	5	5,1	0,50
1	—	2,7	0,26	—	10	5,3	0,52
5	—	2,4	0,23	—	20	7,2	0,70
10	—	5,5	0,54	15*	—	2,1	0,20
20	—	4,6	0,45	—	15**	2,7	0,27
—	1	1,2	0,12				

* Nach der Klärung wurden 20 ccm verdünnte Schwefelsäure in den Perforator gegeben.

** Sofort, ohne Stehenlassen über Nacht, filtriert.

Hiernach tritt Bildung größerer Mengen Ameisensäure unter den gewählten Versuchsbedingungen nicht ein. Immerhin scheint Entstehung kleiner, unter 1 mg liegender Mengen nicht ausgeschlossen, weshalb es sich empfiehlt, die Fällung mit Zinksulfat unmittelbar nach dem Vermischen mit der Kaliumferrocyanidlösung vorzunehmen und dann sofort zu filtrieren, um die Cyansalze zu entfernen. Die Abscheidung des Ferrocyanids ist auf diese Weise eine vollständige. Störungen sind dann nur noch durch etwa bereits vorher frei gewordene Blausäurespuren möglich.

Für eine gute Klärwirkung kann aber unbedenklich auch in schwach mineralsaurer Lösung geklärt werden.

In einigen Fällen reichte die Klärung nach Carrez zur Entfernung aller Eiweißstoffe nicht aus. Wir haben sie dann durch Ausfällung mit Phosphorwolframsäure ergänzt. In der Regel wird aber diese Nachbehandlung unterbleiben können.

Durch Anwendung der Perforation ist es möglich, noch sehr kleine Mengen Ameisensäure aus viel zuckerreicher Substanz anzureichern. Die Methode ist daher besonders nützlich zur Prüfung auf natürlich, z. B. in Honig oder Fruchtsäften, vorkommende Spuren Ameisensäure oder zur Untersuchung der Entstehung von Ameisensäure, z. B. durch Zuckerzersetzung unter gewissen Einflüssen.

¹ C. Carrez, Ann. Chim. analyt. appl. 14, 187 (1909) — Z. Unters. Nahrungs- u. Genussmittel 20, 231 (1910).

Es ist hierbei zu beachten, daß bei der Perforation von Naturstofflösungen mit Äther selbstverständlich auch noch andere Stoffe mit ausgezogen werden können. So sind fast alle organischen Fruchtsäuren und Aromastoffe in Äther mehr oder weniger löslich. Dann gehen Zersetzungsstoffe wie Furfurol, Oxymethylfurfurol u. a. in den Äther über und können so unter geeigneten Bedingungen ebenfalls angereichert werden. Das gleiche gilt von ätherlöslichen natürlichen und künstlichen Farbstoffen. Diese Stoffe können auch bei der Behandlung mit Quecksilberchlorid durch eigene Reduktionswirkung Ameisensäure vortäuschen, eine Gefahr, die allerdings durch nachfolgende Anwendung der Destillation mit Benzin nach unserer Vorschrift beseitigt oder doch weitgehend vermindert wird (vgl. S. 25).

In zwei Versuchen wurde geprüft, welche Mengen ätherlösliche Stoffe bei der Inversion von Saccharose mit Säuren entstehen.

1. 250 g Saccharose wurden in destilliertem Wasser gelöst und nach v. Fellenberg invertiert, d. h. in 0,02 normaler Salzsäure 30 Minuten im siedenden Wasserbade erhitzt. Die Lösung wurde unter Klärung nach Carrez auf 500 ccm gebracht und sofort filtriert. Vom Filtrat wurden je 200 ccm der Perforation mit Äther unterworfen, aber ohne Vorlegung von Calciumoxyd. Der erhaltene Auszug wurde in Wasser gelöst, die Lösung filtriert und mit Wasser auf 100 ccm aufgefüllt. In dieser Lösung wurde dann mit Fehlingscher Lösung der Reduktionswert, berechnet als „Invertzucker“, sowie der Reduktionswert gegen Jodlösung, berechnet als „Glucose“, ermittelt. Als „Fructose“ erhält man die Differenz beider Bestimmungen.

Ein gleicher Versuch wurde zum Vergleich mit Naturhonig, aber ohne vorherige Invertierung ausgeführt. Das Ergebnis war folgendes:

Tabelle 38.

Ermittelter Stoff	Auszug aus 200 ccm = 100 g Saccharose		Auszug aus 200 ccm = 100 g Honig mg
	1. Perforation mg	2. Perforation mg	
Cu ₂ O	626,2	553,4	30,0
Invertzucker	301,4	264,4	13,8
Glucose	171,0	225,0	99,0
Fructose	130,4	39,4	—

Der Umstand, daß die aus Saccharose erhaltenen Mengen bedeutend größer sind als die aus Naturhonig, deutet an, daß es sich im wesentlichen um Zersetzungsstoffe, nicht um Glucose und Fructose handeln muß. Die Zahlen für Glucose und Fructose sind also nur scheinbare. Auch die bei Honig gefundenen Werte dürften durch Aromastoffe stark beeinflußt sein.

2. 500 g Saccharose + 100 ccm Salzsäure (D. 1,124) wurden zwecks Inversion mit Wasser auf 1000 ccm gebracht und zur Inversion 48 Stunden lang bei Zimmertemperatur stehengelassen. Dann wurden wieder 200 ccm wie beim vorigen Versuch ohne Calciumoxyd in der Vorlage mit Äther perforiert. Ebenso wie dort wurde dann wieder der ausgezogene Zucker und jetzt auch der Gesamtauszug ermittelt. Das Ergebnis war nun folgendes:

Invertzucker	Glucose	Gesamtauszug
26,6 mg	36,0 mg	40,3 mg

Die Mengen sind hier bedeutend geringer als bei dem ersten Versuch, eine Folge der schonenderen Inversion ohne Erhitzen. Ob es sich bei dem erhaltenen Auszug von 40,3 mg tatsächlich um Zucker handelt, steht dahin und ist auch nicht wahrscheinlich. Auch hier können schon kleine Mengen Zersetzungsprodukte vorliegen. Die Perforationsmethode ist jedenfalls ein einfaches und empfindliches Mittel, um bei der Zuckerinversion entstehende Zersetzungsprodukte abzutrennen.

Es fragte sich nun, welchen Einfluß diese so ausgezogenen Fremdstoffe auf unsere Ameisensäurebestimmung ausüben können. Um hierauf eine Antwort zu geben, wurden folgende Versuche ausgeführt:

1. 100 ccm der vorstehend genannten Invertzuckerlösung wurden mit Natriumformiatlösung, entsprechend 112,6 mg Ameisensäure (HCOOH) versetzt, der Perforation unterworfen und dann im Auszuge die Ameisensäure direkt, ohne Destillation, nach der Quecksilberchloridmethode ermittelt. Das Ergebnis war 123,4 mg Ameisensäure, also 10,8 mg mehr als dem Zusatz entspricht.

2. In einem weiteren Versuch wurden 200 ccm der Invertzuckerlösung mit soviel Natriumformiatlösung vermischt, wie 22,52 mg HCOOH entsprechen, nun der Perforation mit Äther unterworfen, dann aber der Auszug nicht direkt, sondern nach Destillation mit Benzin (Siedepunkt $80-90^\circ$) nach der Quecksilberchloridmethode behandelt. Das Ergebnis war jetzt 22,98 mg HCOOH , oder nur 0,46 mg mehr, als zugesetzt war.

Diese Versuche belegen, daß aus Invertzucker zwar kleine Mengen einer reduzierenden Substanz bei der Perforation mit ausgezogen werden, daß diese Stoffe aber bei unserer Destillation mit Benzin bis auf unwesentliche Spuren zurückbleiben.

Nur wenn es sich um beträchtliche Mengen Zersetzungsstoffe handeln sollte, mag es möglich sein, daß dann daraus bei unserem Verfahren meßbare Mengen Ameisensäure entstehen und nicht vorhandene Zusätze vortäuschen könnten. Für Naturhonige oder natürliche Fruchtsäfte trifft dies jedenfalls nicht zu.

5. Beschreibung der Arbeitsmethode und ihrer Anwendung auf Lebensmittel.

Zur Prüfung von Lebensmitteln auf Ameisensäure auf der in den vorstehenden Abschnitten ausgearbeiteten Grundlage ist zu unterscheiden, ob es sich um den Nachweis und die Bestimmung erheblicher, etwa als Konservierungsmittel zugesetzter Mengen, oder um so kleine Mengen handelt, die praktisch keine konservierende Wirkung mehr ausüben. Ferner ist für die Ausführung der Prüfung wichtig, ob neben der Ameisensäure viel oder wenig Extrakt (Zucker) vorhanden ist. Übersteigt die vorhandene Zuckermenge den 100fachen Betrag der vorhandenen Ameisensäure oder handelt es sich um Nachweis und Bestimmung sehr kleiner Ameisensäuremengen, so empfiehlt sich die vorherige Anreicherung durch Perforation. Im anderen Falle kann die zu prüfende Probe direkt der Destillation unterworfen werden.

Alkoholhaltige Flüssigkeiten werden durch Schütteln mit Calciumcarbonat neutralisiert, zur Entfernung des Alkohols auf dem Wasserbad auf das halbe Volumen eingedampft, nötigenfalls mit Tierkohle entfärbt, filtriert und dann der Destillation unterworfen. Dabei kann die anzuwendende Substanzmenge bis zu 1 g Extrakt betragen.

Die im folgenden beschriebene Arbeitsvorschrift bezieht sich auf den ausführlichen Untersuchungsgang für den Nachweis kleiner Mengen Ameisensäure, auch neben sehr großen Mengen Zucker, z. B. in Honig.

Arbeitsvorschrift.

A. Vorbehandlung. Von der zu prüfenden Substanz wird eine bis höchstens 100 mg Ameisensäure enthaltende Menge in Wasser gelöst und in einen 250 ccm-Meßkolben¹ übergeführt. Von Honig kann man z. B. 125 g verwenden, von Fruchtsäften und Fruchtsirupen eine je nach zu erwartendem Ameisensäuregehalt kleinere Menge. Die Lösung im Kolben bringt man auf etwa 150—200 ccm, säuert mit 20 ccm verdünnter Schwefelsäure (1 + 3) an, fügt zur Klärung nach Carrez 5 ccm Kaliumferrocyanidlösung (150 g im Liter) hinzu, schüttelt gut

¹ Für Doppelversuche empfiehlt es sich, die doppelte Einwaage in einem 500 ccm-Kolben zu behandeln.

um (!), gibt dann 5 ccm Zinksulfatlösung (300 g im Liter) zu, mischt wieder, füllt zur Marke auf und filtriert sofort durch ein trockenes Faltenfilter, auf das man vorher eine Messerspitze voll Kieselgur gestreut hat.

Um zu prüfen, ob die Klärung ausreichend verlaufen ist, gibt man 5—10 ccm des Filtrates in ein Reagenrohr, fügt das gleiche Volumen Äther hinzu, verschließt mit dem Daumen und schüttelt kräftig. Wenn das Filtrat noch Kolloide (Proteine) enthält, bildet sich eine Emulsion zwischen den beiden Schichten, im anderen Falle nicht.

Sind nach dieser Probe noch Kolloide vorhanden, so gibt man 200 ccm des Filtrats in einen weiteren 250 ccm-Kolben, setzt 25 ccm phosphorwolframsaures Natrium¹ zu, füllt zur Marke auf, läßt bis zum folgenden Tage stehen und filtriert durch ein trockenes Faltenfilter.

In den meisten Fällen erhält man direkt, ohne letztere Behandlung, ein kolloidfrees Filtrat. Von diesem bzw. von dem nach Klärung mit Phosphorwolframsäure erhaltenen² Filtrat unterwirft man 200 ccm der Perforation.

B. Anreicherung der Ameisensäure durch Perforation. 200 ccm der geklärten Lösung werden in den Extraktionsraum des Perforators gegeben und soviel Äther zugefügt, bis dieser in den Erlenmeyerkolben als Vorlage abfließt. Diese Vorlage wurde zuvor mit etwa 0,5 g Calciumoxyd und etwa 50 ccm Äther beschickt. Dann wird unter Heizen auf einer elektrischen Heizplatte der Äther so kräftig im Sieden gehalten, wie es der Apparat und das bei zu starkem Erhitzen eintretende Stoßen zuläßt. Diese Perforation läßt man 5—6 Stunden laufen.

Von Vorteil für die Schnelligkeit der Perforation ist es, die Ätherschicht auf der Lösung nach Möglichkeit zu verringern, was man durch vorsichtige Zugabe von Wasser erreichen kann. Die Menge des so zuzugebenden Wassers richtet sich nach der Höhe des Perforationsraumes, sie war bei verschiedenen von uns geprüften Apparaten verschieden.

Während der Perforation beobachtet man oft ein Übergehen von Farbstoffen aus der Lösung in die Vorlage.

Nach Beendigung der Perforation entfernt man den Erlenmeyerkolben und destilliert daraus den Äther aus einem Wasserbade vorsichtig ab. Der Rückstand enthält die ausgezogene Ameisensäure neben anderen organischen Säuren in Form der Calciumsalze neben überschüssigem Calciumhydroxyd. Ein Teil der organischen Säuren ist dabei in in Wasser unlösliche Calciumsalze übergegangen, während Calciumformiat darin leicht löslich ist. Zur Abtrennung des letzteren Salzes verrührt man daher den Rückstand mit etwa 10—15 ccm Wasser, gibt zur Entfärbung eine Messerspitze voll Tierkohle zu, läßt 5 Minuten stehen und filtriert in den 250 ccm-Erlenmeyerkolben, der zur Destillation verwendet wird, und wäscht den Rückstand mit Wasser aus. Das Filtrat versetzt man mit Bismsteingrieß, dampft zuerst auf einer Heizplatte ein und führt das Abdampfen zu Ende, indem man den Kolben unter Befestigung mit einem Halter in ein siedendes Wasserbad eintaucht.

C. Destillation der Ameisensäure mit Benzin. Den nach B erhaltenen Trockenrückstand im Destillationskolben übergießt man mit 5 ccm destilliertem Wasser und 1 ccm³ Phosphorsäure (D. 1,154 = 25 proz.). Alsdann fügt man 150 ccm Benzin (Siedep. 80—90°) hinzu. Zur Destillation dient der in Abb. 4 (S. 22) dargestellte Apparat. Man verbindet ihn mit dem wie vorstehend vorbereiteten Erlenmeyerkolben, gießt Benzin in den Apparat bis zur Höhe von 1 cm unter dem Destillationsrohr und beschickt das darauf angebrachte Meßröhrchen mit 15 ccm destilliertem Wasser. Nun beginnt man die Destillation, bei der die Flamme des Bunsenbrenners so reguliert werden muß, daß man die Tropfen an der unteren Spitze des Kühlers nicht mehr zählen kann.

Sobald etwa 3,5 ccm wässrige Phase im Meßrohr angesammelt sind und im Erlenmeyerkolben eine schwache Gelbfärbung auftritt, läßt man sofort 5 ccm destilliertes Wasser aus dem

¹ 60 g Natriumphosphat + 100 g Natriumwolframat in 1 l.

² Bei der Perforation mit Äther treten in diesem Filtrat Trübungen auf, die auf das Ergebnis keinen Einfluß haben.

³ Bei Vorliegen großer Mengen Ameisensäure oder anderer Säuren, die wasserlösliche Salze bilden, kann der Fall eintreten, daß 1 ccm obiger Phosphorsäure nicht ausreicht, um alle Ameisensäure freizumachen. Man nimmt dann entweder mehr der obigen Säure oder 1 ccm einer stärkeren Phosphorsäure. — Der Rückstand nach der Destillation muß mit etwas Wasser versetzt Kongopapier noch deutlich blau färben. — Für Berechnungen ist zu beachten, daß nur die erste Säurestufe der Phosphorsäure für die Freimachung von Ameisensäure in Frage kommt.

Tabelle 39.
Berechnung der Ameisensäure aus dem gewogenen Quecksilberchlorür.

Hg ₂ Cl ₂ mg	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Entsprechend Ameisensäure in mg									
0	0,00	0,10	0,20	0,29	0,39	0,49	0,59	0,68	0,78	0,88
10	0,98	1,07	1,17	1,27	1,37	1,46	1,56	1,66	1,76	1,85
20	1,95	2,05	2,15	2,24	2,34	2,44	2,54	2,63	2,73	2,83
30	2,93	3,02	3,12	3,22	3,32	3,41	3,51	3,61	3,71	3,80
40	3,90	4,00	4,10	4,19	4,29	4,39	4,49	4,58	4,68	4,78
50	4,88	4,97	5,07	5,17	5,27	5,36	5,46	5,56	5,66	5,75
60	5,85	5,95	6,05	6,14	6,24	6,34	6,44	6,53	6,63	6,73
70	6,83	6,92	7,02	7,12	7,22	7,31	7,41	7,51	7,61	7,70
80	7,80	7,90	8,00	8,09	8,19	8,29	8,39	8,48	8,58	8,68
90	8,78	8,87	8,97	9,07	9,17	9,26	9,36	9,46	9,56	9,65
100	9,75	9,85	9,95	10,04	10,14	10,24	10,34	10,43	10,53	10,63
110	10,73	10,82	10,92	11,02	11,12	11,21	11,31	11,41	11,51	11,60
120	11,70	11,80	11,90	11,99	12,09	12,19	12,29	12,38	12,48	12,58
130	12,68	12,77	12,87	12,97	13,07	13,16	13,26	13,36	13,46	13,55
140	13,65	13,75	13,85	13,94	14,04	14,14	14,24	14,33	14,43	14,53
150	14,63	14,72	14,82	14,92	15,02	15,11	15,21	15,31	15,41	15,50
160	15,60	15,70	15,80	15,89	15,99	16,09	16,19	16,28	16,38	16,48
170	16,58	16,67	16,77	16,87	16,97	17,06	17,16	17,26	17,36	17,45
180	17,55	17,65	17,75	17,84	17,94	18,04	18,14	18,23	18,33	18,43
190	18,53	18,62	18,72	18,82	18,92	19,01	19,11	19,21	19,31	19,40
200	19,50	19,60	19,70	19,79	19,89	19,99	20,09	20,18	20,28	20,38
210	20,48	20,57	20,67	20,77	20,87	20,96	21,06	21,16	21,26	21,35
220	21,45	21,55	21,65	21,74	21,84	21,94	22,04	22,13	22,23	22,33
230	22,43	22,52	22,62	22,72	22,82	22,91	23,01	23,11	23,21	23,30
240	23,40	23,50	23,60	23,69	23,79	23,89	23,99	24,08	24,18	24,28
250	24,38	24,47	24,57	24,67	24,77	24,86	24,96	25,06	25,16	25,25
260	25,35	25,45	25,55	25,64	25,74	25,84	25,94	26,03	26,13	26,23
270	26,33	26,42	26,52	26,62	26,72	26,81	26,91	27,01	27,11	27,20
280	27,30	27,40	27,50	27,59	27,69	27,79	27,89	27,98	28,08	28,18
290	28,28	28,37	28,47	28,57	28,67	28,76	28,86	28,96	29,06	29,15
300	29,25	29,35	29,45	29,54	29,64	29,74	29,84	29,93	30,03	30,13
310	30,23	30,32	30,42	30,52	30,62	30,71	30,81	30,91	31,01	31,10
320	31,20	31,30	31,40	31,49	31,59	31,69	31,79	31,88	31,98	32,08
330	32,18	32,27	32,37	32,47	32,57	32,66	32,76	32,86	32,96	33,05
340	33,15	33,25	33,35	33,44	33,54	33,64	33,74	33,83	33,93	34,03
350	34,13	34,22	34,32	34,42	34,52	34,61	34,71	34,81	34,91	35,00
360	35,10	35,20	35,30	35,39	35,49	35,59	35,69	35,78	35,88	35,98
370	36,08	36,17	36,27	36,37	36,47	36,56	36,66	36,76	36,86	36,95
380	37,05	37,15	37,25	37,34	37,44	37,54	37,64	37,73	37,83	37,93
390	38,03	38,12	38,22	38,32	38,42	38,51	38,61	38,71	38,81	38,90
400	39,00	39,10	39,20	39,29	39,39	39,49	39,59	39,68	39,78	39,88
410	39,98	40,07	40,17	40,27	40,37	40,46	40,56	40,66	40,76	40,85
420	40,95	41,05	41,15	41,24	41,34	41,44	41,54	41,63	41,73	41,83
430	41,93	42,02	42,12	42,22	42,32	42,41	42,51	42,61	42,71	42,80
440	42,90	43,00	43,10	43,19	43,29	43,39	43,49	43,58	43,68	43,78
450	43,88	43,97	44,07	44,17	44,27	44,36	44,46	44,56	44,66	44,75
460	44,85	44,95	45,05	45,14	45,24	45,34	45,44	45,53	45,63	45,73
470	45,83	45,92	46,02	46,12	46,22	46,31	46,41	46,51	46,61	46,70
480	46,80	46,90	47,00	47,09	47,19	47,29	47,39	47,48	47,58	47,68
490	47,78	47,87	47,97	48,07	48,17	48,26	48,36	48,46	48,56	48,65

Meßröhrchen zufließen, destilliert weitere 5 ccm ($3,5 + 5,0 = 8,5$ ccm im Meßrohr) über, setzt wieder 5 ccm Wasser zu und fährt so fort, bis man mindestens 19,5 ccm wässrige Phase im Meßrohr angesammelt hat. Die ganze Destillation dauert ungefähr $\frac{3}{4}$ Stunden.

Darauf läßt man zur Klärung und Schichtentrennung 10 Minuten stehen und trennt die wässrige Phase unter Ausfließenlassen in eine 100 ccm-Glasschale ab. Nun nimmt man den Kühler ab, steckt einen Trichter in den Apparat, wäscht den Kühler durch Abspritzen ab und trennt wieder das in die Bürette abfließende Waschwasser ab, das man zu dem ersten Destillat gibt. Darauf wird der Apparat selbst zweimal ausgewaschen und die Waschflüssigkeit wieder zu dem Destillat im Glasschälchen gegeben. Nun fügt man dazu etwa 1 g Calciumcarbonat und verdampft auf dem Wasserbade zur Trockne.

D. Bestimmung der Ameisensäure mit Quecksilberchlorid. Nach Verdampfung des Schälcheninhaltes zur Trockne wird der Rückstand mit etwas destilliertem Wasser angefeuchtet, mit Wasser auf ein 7 cm-Rundfilter gebracht, in ein großes Probeglas (Länge 18 cm, Durchmesser 2,5 cm) filtriert und nachgewaschen, bis das Filtrat etwa 50 ccm beträgt. Man fügt 15 ccm Quecksilberchloridlösung¹ hinzu und erhitzt 1 Stunde lang im kochenden Wasserbad. Dann wird durch einen gewogenen Glasfiltertiegel von Schott u. Gen. (10 G 3) filtriert, bei 105° getrocknet und gewogen. Das Gewicht des Niederschlages, mal 97,5, entspricht der gefundenen Menge Ameisensäure.

Vorstehende Tab. 39 erspart diese Umrechnung für die meistens gewogenen Mengen.

Das Endergebnis wird unter Berücksichtigung der bei der obigen Klärung abgetrennten Teile auf die Einwaage umgerechnet.

Wiedergewinnung des Benzins. Das bei der Destillation benutzte Benzin kann nach folgender Behandlung erneut wieder benutzt werden: Die von verschiedenen Destillationen angesammelten Mengen werden in einem Schütteltrichter dreimal mit etwa $\frac{1}{4}$ des Volumens Wasser ausgeschüttelt. Dann wird mit etwas Natronlauge destilliert, im Destillat die wässrige Phase im Scheidetrichter abgetrennt und das Benzin mit Kieselgur geklärt. Man filtriert von den entstandenen Flocken ab und erhält als Filtrat das gereinigte Benzin.

Nach dieser Vorschrift wurden nun einige Honige und Fruchtsäfte aus dem Handel untersucht und folgendes Ergebnis erhalten:

Tabelle 40.

Nr.	Art der Probe	Einwaage in 100 ccm Perforationsflüssigkeit	Zur Destillation verwendete Säure	Gefundene Ameisensäure		
				Hg ₂ Cl ₂ mg	HCOOH mg	HCOOH mg-%
1	Honig	35 g	Monochloressigsäure	76,0	7,41	2,9
2	Honig	50 g	„	32,2	3,14	3,1
3	Honig	50 g	Phosphorsäure	59,5	5,80	5,8
4	Honig	50 g	„	41,2	4,60	4,6
5	Blatthonig	100 g	„	213,9	20,86	20,9
6	Kunsthonig	20 g	„	38,0	3,71	18,6
7	Kirschmutteraft . . .	10 ccm	Monochloressigsäure	448,2	43,70	218,5
8	Kirschmutteraft . . .	10 ccm	„	497,4	48,50	242,5
9	Himbeermutteraft . . .	10 ccm	„	602,9	58,78	293,9
10	Johannisbeersaft . . .	10 ccm	„	13,5	1,32	6,6
11	Blutorangenrohsaft . . .	10 ccm	„	5,7	0,56	2,8
12	Apfelsinenrohsaft . . .	10 ccm	„	5,7	0,56	2,8
13	Ahornsirup	100 g	Phosphorsäure	311,6	30,38	30,4
14	Speisesirup	100 g	„	240,0	23,40	23,4

Aus den Versuchen geht folgendes hervor:

Normale Honige (Proben 1—4) und normale Fruchtsäfte (Proben 10—12) enthalten sehr kleine Mengen Ameisensäure (oder eines Stoffes, der mit Äther ausziehbar

¹ Bereitung nach Cl. Zäch [Mitt. Lebensmittelunters. 24, 35 (1933)] vgl. S. 13. 15 ccm der Lösung oxydieren im Höchstoffalle 127 mg Ameisensäure. Es empfiehlt sich aber, stets einen größeren Reagensüberschuß zu verwenden, also auf je etwa 50 mg Ameisensäure 15 ccm der genannten Lösung.

ist und bei unserer Destillation Ameisensäure liefert). Die Menge ist aber so klein, daß sie nach den früheren Methoden nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden konnte. Erst die durch die Perforation eintretende Konzentrierung und Abtrennung vom Zucker hat diesen Nachweis ermöglicht.

Bei Blatthonig (Probe 5), Kunsthonig (Probe 6), Ahornsirup (Probe 13) und Speisesirup (Probe 14) ist die gefundene Menge Ameisensäure merklich höher, was bei Kunsthonig und Ahornsirup vielleicht mit stattgefundenem Erhitzen der Proben zusammenhängt. Nach vorläufigen Beobachtungen scheint es, daß beim Erhitzen von Zucker mit Säure nicht allein, wie bekannt, Oxymethylfurfurol, sondern auch Ameisensäure entsteht.

Die Proben 7—9 enthalten offensichtlich als Konservierungsmittel zugesetzte Ameisensäure. Die gefundenen Mengen sind so groß, wie sie bei der Konservierung zugesetzt zu werden pflegen.

Kurze Zusammenfassung.

1. Da die Schwerflüchtigkeit der Ameisensäure mit Wasserdampf auf Hydratbildung beruht, wurde versucht, die Ameisensäure gleichzeitig mit dem vorhandenen Wasser im Untersuchungsgegenstand mit in Wasser unlöslichen organischen Destillationsmitteln überzutreiben.

2. Auch bei mehrstündigem Kochen von verdünnten Ameisensäurelösungen mit Benzol, Toluol und Benzin wurde keine Ameisensäurezersetzung gefunden.

3. Niedrigersiedende Destillationsmittel wie Benzol oder Petroläther erfordern sehr lange Destillationszeit oder sehr große Destillatmengen, um alle Ameisensäure überzutreiben.

4. Mit Toluol lassen sich in etwa 100 ccm Destillat, mit Benzin vom Siedep. 100 bis 110° in etwa 200 ccm Destillat, aus 6 ccm wässriger Lösung praktisch alle Ameisensäure (über 95%) überdestillieren.

5. Von den höheren Homologen der Ameisensäure zeigen Essigsäure und Propionsäure bei Destillation mit Toluol eine Flüchtigkeit von nahezu gleicher Größenordnung wie Ameisensäure, Buttersäure eine merklich, Valeriansäure eine wesentlich geringere und Nonylsäure nur noch etwa $\frac{1}{40}$ der von Ameisensäure. Milchsäure geht in beträchtlichen Mengen mit über, dagegen Benzoesäure sehr schwer.

6. Die Bestimmung der Ameisensäure mit Bromessigsäure versagt in sehr verdünnten Lösungen. Andererseits können bei der Bromoxydation unter Umständen Salicylsäure, Malonsäure, Oxalsäure, Zuckerarten, Milchsäure, Gerbsäure und Alkohol Ameisensäure vortäuschen.

7. Bei zu weitgehender Destillation mit Toluol oder Benzin in Gegenwart von Phosphorsäure entstehen aus Zuckerarten durch Caramelisierung Ameisensäure oder Ameisensäure vortäuschende Stoffe. Diese Störungen sind bei der Brommethode größer als bei der Quecksilberchloridmethode.

8. Durch vorzeitige Abbrechung der Destillation, nämlich bei einer Destillatmenge von 60 ccm bei Toluol, von 120 ccm bei Benzin, Siedep. 100—110°, werden diese Störungen, bedingt durch Caramelisierung, vermieden. Die Ausbeute an Ameisensäure beträgt bei dieser Destillation etwa 75%, ist aber von der Geschwindigkeit der Destillation abhängig, indem bei zu schneller Destillation Verluste auftreten.

9. Eine praktisch völlige Destillation der Ameisensäure mit Benzin unter Vermeidung einer Entstehung neuer Ameisensäure durch Caramelisierung von Zucker gelingt durch Abbrechung der Destillation bei beginnender Caramelisierung und mehrmalige Wieder-

holung dieser Behandlung unter jedesmaligem Wasserzusatz in einem besonderen Apparat.

10. Versuche, die caramelisierende Einwirkung von Phosphorsäure auf Zuckersubstanzen bei der Destillation durch Anwendung organischer Säuren herabzusetzen, erwiesen sich als aussichtsreich. Besonders Monochloressigsäure war für diesen Zweck geeignet. Bei Anwendung der besonderen, gebrochenen Destillationsweise bietet aber diese Ausführungsform keine Vorteile.

11. Bei der Destillation von Formiaten mit Phosphorsäure und Benzin bleiben kleine Anteile Ameisensäure undestillierbar im Rückstand, so daß die Ausbeute auch bei mehrmals wiederholter Destillation rund 97% nicht übersteigt. Die Verluste sind bei Erhöhung des Säurezusatzes prozentual erhöht, von der Ameisensäuremenge aber anscheinend nicht abhängig.

12. Durch etwa 5stündige Perforation mit Äther in einem geeigneten Apparat gelingt es, kleine Ameisensäuremengen auch von großen Zuckermengen zu trennen, wenn man durch Zugabe eines Alkalis oder Erdalkalis, vorzugsweise von Calciumhydroxyd, die Rückdestillation der Ameisensäure aus der Vorlage verhindert.

13. Zur Ausführung der Perforation ist eine völlig kolloidfreie Substanzlösung erforderlich. Man erhält diese durch Klärung nach Carrez mit Kaliumferrocyanid und Zinksulfat, nötigenfalls mit anschließender Ausfällung mit Phosphorwolframsäure. Besondere Versuche zeigten, daß hierbei eine Störung durch etwaige Hydrolyse von Cyanwasserstoff zu Ammoniumformiat nicht eintritt.

14. Durch Inversion von Saccharose in der Hitze entstehen kleine, nach unserer Methode nachweisbare Mengen Ameisensäure und größere Mengen reduzierender Substanz, die aber bei der Destillation mit Benzin im Rückstand bleiben. Bei Ausführung der Inversion bei Zimmertemperatur ist die Bildung dieser reduzierenden Stoffe bedeutend vermindert.

15. Für Nachweis und Bestimmung von Ameisensäure in Lebensmitteln wird eine Arbeitsvorschrift angegeben.

16. Nach dieser Arbeitsweise wurden in 4 Naturblütenhonigen 2,9—5,8, in einem Blatthonig 20,9, in einem Kunsthonig 18,6 mg% Ameisensäure ermittelt. Weiter enthielten Fruchtsäfte 2,8—6,6, Ahornsirup 30,4, Speisesirup 23,4 mg% Ameisensäure. In konserviertem Kirsch- und Himbeermuttersaft betrug der gefundene Ameisensäuregehalt 218,5—293,9 mg%.

Lebenslauf.

Ich, *Roméo Payfer*, kanadischer Staatsbürger, bin am 16. Februar 1902 in Montréal, P. Q. (Kanada) geboren.

Ich besuchte das Séminaire de Joliette in Joliette (Kanada) von 1916—1923 und nach Erlangung des Reifezeugnisses (Baccalauréat és Arts, B. A.) anschließend die Universität Montréal, Abteilung Ecole Polytechnique, wo ich bis 1928 Chemie studierte und im Mai 1928 mein Diplom als „Chemiker-Ingenieur“ (Ingenieur Chimiste) und den Grad eines Bachelier és Sciences Appliquées erhielt.

Von September 1936 bis November 1938 habe ich mit Unterbrechungen an der Technischen Hochschule Berlin studiert und in der gleichen Zeit eine Forschungsarbeit in der Preußischen Landesanstalt für Lebensmittel-, Arzneimittel- und gerichtliche Chemie in Berlin-Charlottenburg 5, Kantstr. 79, unter Anleitung von Prof. Dr. Großfeld ausgeführt.
