

Analytisch-technische Untersuchungen

Neues Verfahren zur colorimetrischen Bestimmung von Vitamin C

Von E. SCHULEK und J. FLODERER

Mitteilung aus der Chemischen Abteilung des K. Ungarischen Staatl. Hygienischen Institutes, Budapest

Eingeg. 25. Mai 1939

Gelegentlich von Untersuchungen, welche die quantitative Bestimmung von in verschiedener Bindung vorliegendem Eisen zum Ziel hatten¹⁾, prüften wir auch die reduzierende Eigenschaft der Ascorbinsäure. Die Untersuchungen zeigten, daß die Ascorbinsäure unter entsprechenden Versuchsbedingungen das Ferrieisen in genau stöchiometrischem Verhältnis zum Ferroion reduziert, dessen Menge sich mittels des mit α, α' -Dipyridyl gebildeten Komplexes photometrisch sehr genau bestimmen läßt.

Das Ferroion bildet in sehr schwach sauren oder neutralen Lösungen mit α, α' -Dipyridyl den äußerst stabilen Ferrodipyridylkomplex, während das Ferriion unter denselben Versuchsbedingungen mit dem Dipyridyl nicht reagiert. Man muß aber berücksichtigen, wie leicht das Gleichgewicht zwischen der Ferro- und Ferri-Form sogar in rein schwefelsaurer Lösung besonders beim Verdünnen sowie im Sonnenlicht verschoben wird, und muß Sorge tragen, daß das Ferriion während des Arbeitens nicht reduziert wird, es ist also in Form irgendeines Komplexes unschädlich zu machen, wobei zu beachten ist, daß der Ferrikomplex weniger stabil ist als der Ferrodipyridylkomplex, da nur in diesem Fall eine Reduktion des Ferrions durch Ascorbinsäure erwartet werden kann. Zum Binden des Ferrions erwies sich Phosphorsäure am zweckmäßigsten, obzwar nach unseren Versuchen in acetatgepufferter Lösung in Gegenwart von α, α' -Dipyridylreagens sogar im diffusen Sonnenlicht Reduktion in kleinem Ausmaße stattfindet. Diese unerwünschte Reduktion kann jedoch hintangehalten werden, wenn man die vorbereitete Lösung im Dunkeln hält. Die Oxydation der Ascorbinsäure jedoch findet nach unseren Versuchen auch im Dunkeln binnen verhältnismäßig kurzer Zeit statt. Da sich das Ferriion enthaltende, phosphorsaure Reaktionsgemenge nach dem Abstumpfen mit Natriumacetat nach längerem Stehen leicht trübt und opalescent wird, wird die Reaktion in Gegenwart von Citronensäure ausgeführt. Nach unseren Versuchen reduziert auch die Citronensäure in Gegenwart von α, α' -Dipyridyl im Sonnenlicht das Ferrioreagens ein wenig; dieses kann jedoch vollkommen umgehen, wenn die Reaktion im Dunkeln oder bei künstlichem Licht ausgeführt wird.

Reagentien: 0,10 g krist. Ferialaun, gelöst in 100 cm³ 20%iger Phosphorsäure,
1%ige Citronensäurelösung,
20%ige Ammoniumacetatlösung,
1%ige alkoholische α, α' -Dipyridyllösung (man verwendet von KOH destillierten 96%igen Alkohol).

Man gibt in einen Meßkolben von 100 cm³ Inhalt 2 cm³ Ferialaunreagens, 10 cm³ Citronensäurelösung, 0,4 cm³ Dipyridylreagens und 10 cm³ Ammoniumacetatlösung. Zu diesem Gemenge läßt man ein bekanntes Volumen der auf Ascorbinsäure zu prüfenden Lösung fließen. Man schwenkt den Kolben um, um zu vermischen, und setzt ihn im Dunkeln beiseite (hierzu eignen sich sehr gut die Pappschachteln der Flaschen von Perhydrol Merck). Nach 2 h ergänzt man mit dest. Wasser bis zur Marke und bestimmt dann die Extinktion der Lösung in einer 30 mm langen Cuvette des Pulrichschen Photometers mit dem Farbfilter S 50. Eine Extinktion von $E = 0,436$ bedeutet 100 γ Eisen in 100 cm³ Lösung und 100 γ Eisen sind mit 157,7 γ Ascorbinsäure äquivalent. Danach bedeutet eine Extinktion von $E = 0,2765$ 100 γ Ascorbinsäure in 100 cm³ Lösung

¹⁾ Vgl. Colorimetrische Bestimmung von Ferro- und Ferrieisen in Gegenwart von Al, Mn, Zn, Hg, Cu, Phosphorsäure bzw. von organischen Substanzen, mit besonderer Berücksichtigung der Arzneipräparate, Z. analyt. Chem. 117, 176 [1939].

und eine Extinktion von $E = 0,136,17$ γ Ascorbinsäure in 100 cm³ Lösung. Als Kompensationsflüssigkeit verwendet man ein auf genau dieselbe Weise vorbereitetes Reaktionsgemenge, mit dem Unterschied, daß man statt Dipyridylreagens dieselbe Menge konz. Alkohol verwendet; wir empfehlen die Verwendung dieser Kompensationsflüssigkeit. Auch halten wir es für zweckmäßig, den für 100 γ Eisen von uns angegebenen Extinktionswert ($E = 0,436$) am eigenen Photometer zu kontrollieren, da dessen Wert von der Einstellung des Instrumentes und individuellen Verschiedenheiten abhängen kann.

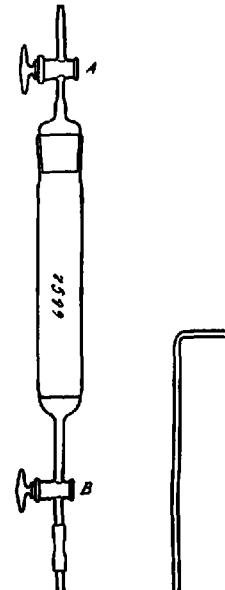
Im Laufe der Ausarbeitung des Verfahrens wurden auch folgende Fragen gelöst. Das Ferroeisen kann unter den angegebenen Bedingungen genau gemessen werden, ob während der Einwirkungszeit die Lösung im Dunkeln oder am elektrischen Licht gehalten wird. 0,5 g Citronensäure oder 0,5 g Oxalsäure reduzieren das Ferrieisen im Dunkeln auch in 2 h nicht; 2 h am elektrischen Licht (Wolframlampe) gehalten, erhöhte sich der Extinktionswert nur um 0,01. Auch das Licht der Photometerlampe erhöhte in $1/4$ h die Extinktion nur um 0,01.

Unter den angegebenen Versuchsbedingungen reduzierten je 0,01 g Cystin oder Glutathion oder Vitamin B₁ in 100 cm³ Lösung kein Ferrieisen.

Prüfung des Verfahrens.

Wir erprobten unser Verfahren an synthetischer Ascorbinsäure der Fa. Hoffmann-La Roche in Basel. Wir bereiteten eine mit Kohlensäure gesättigte Ascorbinsäure-Stammlösung auf folgende Weise:

Das in der Zeichnung ersichtliche, trockene Glasgefäß, welches mit einem Sinterglasfilter G. 3 versehen ist, wird mit einem CO₂-Entwickler verbunden, und während man CO₂ einleitet, werden 100 cm³ mit Kohlensäure gesättigtes dest. Wasser mittels einer Pipette in das Gefäß eingemessen. Die Kohlensäure wird 10 min durch die Flüssigkeit geleitet. Dann streut man eine abgewogene Menge Ascorbinsäure in die Flüssigkeit, ohne den Gasstrom zu unterbrechen. Nach 5 min wird Hahn A, dann B verschlossen, die Verbindung mit dem Gasentwickler gelöst und das Gefäß mit Hahn A nach abwärts gedreht. Aus dieser Stammlösung konnten wir in einem anderen, ähnlichen Gefäß auch Verdünnungen bereiten, indem wir in genau bekannte Volumina mit Kohlensäure gesättigten Wassers bekannte Volumina dieser Ascorbinsäure pipettierten, unter ständigem Durchströmen von Kohlensäure.



Wir konnten die Stabilität unserer Ascorbinsäurelösungen nur auf diese Weise sichern. Die erreichbare Genauigkeit unseres Verfahrens bezeugen die in Tabelle 1 zusammengefaßten Messungen. Wurde durch die Stammlösung 1 h Luft hindurchgesaugt und wurden aus dieser mit Luft gesättigten Lösung, jedoch in kohlensaurer Medium, Verdünnungen hergestellt, so blieben unsere Ergebnisse dieselben. Versetzt man die mit Luft gesättigte Ascorbinsäurelösung mit einer Spur Kupfer, so sinkt nach

Tabelle 1.

Einwaage an Ascorbinsäure γ in 100 cm ³ Lösung	Extinktion (d = 80 mm; S. 50)		Gefundene Ascorbinsäure in % der Ein- waage	%.
	einzel	im M.-Wert		
41,2	0,114 0,112 0,115 0,114 0,114	0,114	100,10	+0,10
82,4	0,225 0,229 0,225 0,229 0,227	0,227	99,64	-0,86
123,6	0,340 0,342 0,342 0,342 0,343	0,342	100,10	+0,10
164,8	0,453 0,452 0,456 0,452 0,453	0,454	99,64	-0,86
206,0	0,567 0,565 0,570 0,572 0,576	0,570	100,10	+0,10

12stündigem Stehen der Ascorbinsäuregehalt der einfach mit dest. Wasser (ohne CO_2) verdünnten Lösungen auf 65%, der mit kohlensaurer Lösung verdünnten auf 71%. Die sauerstofffreie, also mit Kohlensäure hergestellte, jedoch eine Spur Kupfer enthaltende Ascorbinsäurelösung verlor in 24 h nur 1,5% ihres Ascorbinsäuregehaltes.

Wir versuchten mit unserer Methode eine C-Vitamin-Bestimmung in Apfelsinen und Citronen. Wir bereiteten aus Citronen bzw. Apfelsinen, deren Gewicht bekannt war, Presssaft, welchen wir durch Zentrifugieren klärten. Zu 3 cm³ des Saftes gaben wir 30 cm³ Wasser und bestimmten die Reduktionskraft von 2- und 3-cm³-Anteilen dieser Verdünnungen; den Wert drückten wir in Ascorbinsäure aus. Citronensaft enthielt in 100 cm³ im Mittel 63,6 mg, Apfelsinensaft 66,5 mg Ascorbinsäure. Durch Titration mit Dichlorphenolindophenol²⁾ ergab sich

²⁾ Vgl. hierzu Ott, diese Ztschr. 50, 75 [1937], 51, 537 [1938], sowie Strohecker u. Vaubel, ebenda 49, 666 [1936].

der Ascorbinsäuregehalt desselben Citronen- bzw. Apfelsinensaftes zu 59,1 bzw. 61,6 mg/100 cm³. — Der Ascorbinsäuregehalt des verdünnten Citronensaftes war nach zwei Tagen 58,6 mg, auf 100 cm³ des ursprünglichen Citronensaftes berechnet; der Gehalt änderte sich daher nicht wesentlich. — Die Frage, warum unser Verfahren etwas höhere Ascorbinsäuregehalte ergibt als dasjenige der Titration mit Dichlorphenolindophenol, bleibt noch offen (Tab. 2).

Tabelle 2.

Einwaage	Extinktion		Gehalt an Ascorbinsäure mg in 100 g	Anmerkung
	(d = 80 mm; S. 50)	einzel	im M.-Wert	
Citronensaftverdünnt (16,828 g in 100 cm ³)			0,331 0,324 0,326 0,325 0,329	63,01 Titrierwert mittels Dichlor- phenolindophenol 50,1
2 cm ³ = 0,1877 g Citronensaft			0,490 0,492 0,490 0,493 0,498	63,2 Desgl.
3 cm ³ = 0,2816 g Citronensaft			0,311 0,308 0,309 0,307 0,311	59,4 Nach 2 Tagen bestimmt
2 cm ³ = 0,1877 g Apfelsinensaft			0,342 0,348 0,343 0,342 0,339	65,3 Titrierwert mittels Dichlor- phenolindophenol 61,3
8 cm ³ = 0,2884 g Apfelsinensaft			0,515 0,518 0,519 0,516 0,515	65,9 Desgl.

Wir hoffen, daß sich unser Verfahren zur Bestimmung der Ascorbinsäure in Obstsaften sowie in physiologischen Flüssigkeiten gut eignen wird; dieses um so mehr, da zur Bestimmung 0,1—1 cm³ Flüssigkeit genügen. Auch gefärbte Pressäfte dürften sich mit dem Verfahren untersuchen lassen, wenn man Kompensationsflüssigkeiten verwendet. — Unsere Untersuchungen werden fortgesetzt.

[A. 54.]

Über die Ungefährlichkeit konstant siedender, 72%iger Überchlorsäure

Von Dr. WALTER DIETZ, Chemisches Institut der Universität Breslau

Eingelegt 14. Juni 1939.

I. Über die Detonierbarkeit der konstant siedenden, 72%igen Überchlorsäure¹⁾.

Im Rahmen einer analytischen Arbeit²⁾, bei der chrom-haltige Substanzen, besonders Stähle, mit Überchlorsäure aufgeschlossen wurden, tauchte die Frage nach der Gefährlichkeit dieser Säure auf. Bekannt sind die äußerst heftigen Explosionen, die beim Zusammenbringen dieser Säure mit organischen Substanzen auftreten³⁾, neuerdings finden Gemische dieser Art auch Verwendung als Sprengmittel.

¹⁾ Im folgenden ist mit Überchlorsäure immer das Gemisch von Überchlorsäure und Wasser gemeint, das bei 203° konstant siedet bei einem HClO_4 -Gehalt von 72,3 Gew.-%.

²⁾ Kurzer Bericht: diese Ztschr. 50, 910 [1937]. Ausführlicher Bericht erscheint demnächst.

³⁾ Neuere Mitteilungen über derartige Explosionen: A. F. Joseph u. F. J. Martin, durch Chem. Ztrbl. 1927, IV, 64; H. u. W. Blitz: Ausführung quant. Analysen, 1. Auflage, 1930, 179; Jul. Meyer u. W. Spormann, Z. anorg. allg. Chem. 228, 341 [1936]; A. Seuthe u. E. Schäfer, Arch. Eisenhüttenwes. 10, 549 [1937]; „Vom Tage“, Chemiker-Ztg. 1937, 657; F. Petzold, Chem. Fabrik 10, 302 [1937]. Viele Angaben aus deutschem und ausländischem Schrifttum finden sich außerdem bei E. Kahane, Z. analyt. Chem. 111, 14 [1937]. Ferner sei hingewiesen auf die Explosionen, die beim Erhitzen von Überchlorsäure mit Wismutmetall beobachtet wurden von Fichter u. Jenny, Helv. chim. Acta 6, 225 [1923], und von Nicholson u. Reedy, J. Amer. chem. Soc. 57, 817 [1935].

Dem Verfasser wurde jedoch aus Industrielaboratorien von schweren Explosionen beim Lösen von Stählen mit Überchlorsäure auch bei Abwesenheit jeglicher organischer Substanz berichtet; eine genauere Auskunft über die Explosionen wurde jedoch nicht gegeben. Um die Ursachen für die rätselhaften Explosionen aufzufinden, wurden folgende Versuche ausgeführt.

Erhitzungsversuche.

Versuch 1. 250 cm³ 60%ige technische Überchlorsäure von Merck wurden aus einem Jenaer Kolben restlos überdestilliert und der Rückstand bis zum Erweichen des Glases weiter erhitzt. Es erfolgte keine Explosion.

Versuch 2. In siedender Überchlorsäure wurde zwischen Platin spitzen ein elektrischer Lichtbogen erzeugt. Der Bogen ist in der siedenden Überchlorsäure immer nur von sehr kurzer Dauer, dann tritt sehr heftige Elektrolyse mit stetiger Feuererscheinung an der Anode auf. Durch den Lichtbogen werden nur örtliche schwache Verpuffungen durch plötzliches Verdampfen von Überchlorsäure hervorgerufen, während die 1/2 mm starken Platindrähte zu Kugelchen zusammenschmelzen.

Detonierversuche.

Da sich die Überchlorsäure gegen extreme thermische Behandlungen als völlig resistent erwies⁴⁾, wurde versucht, sie durch

⁴⁾ Abgesehen von der Zersetzung, die sie immer während des Siedens erleidet.