

wurde mit Salzsäure angessäuert und in Äther aufgenommen. Der Rückstand war ein harziger Brei, der mit Diazomethan verestert wurde. Der Rohester wurde destilliert und die Mittelfraktion vom Sdp. 219—222° (0,1 mm) analysiert.

$$[\alpha]_D^{20} = +28,53^\circ \text{ (c = 12,760 in Chloroform)}$$

4,214 mg Subst. gaben 10,28 mg CO<sub>2</sub> und 3,17 mg H<sub>2</sub>O  
3,442; 3,229 mg Subst. gaben bei der Methoxylbest. 6,132; 5,840 mg AgJ  
C<sub>28</sub>H<sub>42</sub>O<sub>8</sub>      Ber. C 66,38    H 8,36    4 OCH<sub>3</sub> 24,52%  
                    Gef. „ 66,57 „ 8,42 „ 23,53; 23,89%

Die Analysen sind in unserem mikroanalytischen Laboratorium (Leitung *Hs. Gubser*) ausgeführt worden.

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg.  
Technischen Hochschule, Zürich.

---

## 28. Über eine Methode zur quantitativen Bestimmung des Formaldehyds in mit Formalin gehärtetem Casein

von **Hs. Nitsehmann und H. Hadorn.**

(15. II. 41.)

Seit einigen Jahren bemüht man sich in verschiedenen Ländern mit wachsendem Erfolg um die Herstellung künstlicher, wollähnlicher Fasern aus Casein. Das Casein, welches von der Natur zur Ernährung und damit zum chemischen Abbau bestimmt ist, hat im rohen Zustand keineswegs diejenigen mechanischen Eigenschaften, die man von einem Fasereiweiss fordern muss. In trockenem Zustand ist es spröde und brüchig, während es im nassen Zustand seines grossen Quellungsvermögens wegen alle Festigkeit einbüsst. Diese Nachteile können bekanntlich durch eine sogenannte Härtung behoben werden, die man ihrem Wesen nach besser als Gerbung bezeichnen würde. Als Härtungsmittel kommt in erster Linie Formaldehyd in Frage, und in der Tat lässt sich solcher in allen bisher auf dem Markt erschienenen Caseinfasern nachweisen. Somit stellt die Formalinhärtung einen der wichtigsten Vorgänge bei der Caseinfaserherstellung dar, und es ergibt sich deshalb die Forderung nach einer genauen Überwachung dieses Prozesses und damit nach einer Methode zur exakten quantitativen Bestimmung des vom Casein gebundenen Formaldehyds. Aber nicht nur bei der Herstellung der Fasern, sondern auch beim Färben kann eine Kontrolle des Formaldehydgehaltes erforderlich werden. Bei der Benützung von Wollfarbstoffen, die fast alle in saurer Flotte bei erhöhter Temperatur zur Anwendung gelangen, besteht für die Caseinfaser die grosse Gefahr, dass Formaldehyd abgespalten wird, was eine

wesentliche Schädigung bis völlige Zerstörung mit sich bringen kann<sup>1)</sup>. Für die Färberei ist es deshalb mindestens bei der Ausarbeitung von Rezepten erwünscht, neben den mechanischen und textilen Eigenschaften des Fasermaterials auch seinen Formaldehydgehalt zu kontrollieren. Im Folgenden wird eine Methode zur quantitativen Bestimmung von an Casein gebundenem Formaldehyd mitgeteilt, welche wir im Rahmen einer grösseren Arbeit, über die später zu berichten sein wird, ausgearbeitet haben.

Über die Reaktionen, die sich zwischen Formaldehyd und Eiweissstoffen abspielen, sind wir nur mangelhaft unterrichtet. Immerhin wissen wir, dass es sich um Anlagerungs- und Kondensationsreaktionen handelt, welche wenigstens z. T. eine hauptvalenzmässige Verknüpfung der Proteinmolekülen untereinander bewirken können. Ferner ist bekannt, dass die Reaktionsprodukte beim Kochen mit Wasser oder rascher mit Säuren den Formaldehyd wieder abspalten. Auf diesem Umstand basieren alle Bestimmungsmethoden für den gebundenen Formaldehyd.

*Highberger* und *Retzsch*<sup>2)</sup> haben in einer sehr sorgfältigen Untersuchung eine Methode zur quantitativen Bestimmung des Formaldehyds in formalingeberbtem Leder ausgearbeitet. Wir erwarteten, dass ihre Methode auch beim Casein ohne weiteres angewendet werden könnte, fanden aber, dass das nicht der Fall ist. Die Arbeitsweise von *Highberger* und *Retzsch* ist kurz die folgende:

In einem Destillierkolben mit absteigendem Kühler werden 2 g der Lederprobe mit 100 cm<sup>3</sup> 2-n. Schwefelsäure übergossen und zum Sieden erhitzt. Das Destillat (Wasser und Formaldehyd) wird in einer Vorlage mit überschüssiger Natriumhydrogensulfatlösung (NaHSO<sub>3</sub>) aufgefangen. Der Kolbeninhalt wird auf ein Volumen von etwa 10 cm<sup>3</sup> eingedampft, bis die Schwefelsäure gerade zu rauchen anfängt, was in  $\frac{3}{4}$  bis 1 Stunde zu erreichen ist. Der Formaldehyd befindet sich nun quantitativ in der Vorlage, wo er sich mit dem Hydrogensulfit zu der bekannten Additionsverbindung vereinigt. Zur Beendigung dieser Reaktion lässt man die Vorlage noch 15 Minuten stehen. Jetzt titriert man das überschüssige Hydrogensulfit unter Zusatz von Stärke mit Jodlösung weg. Die dazu verbrauchte Jodmenge wird nicht gemessen. Zur so vorbereiteten Lösung setzt man Äthylalkohol, welcher verhindert, dass nachher Hydrogensulfit durch den Luftsauerstoff oxydiert wird. Nun macht man soda-alkalisch, wobei die Aldehyd-Hydrogensulfatverbindung gespalten wird. Das frei gewordene Hydrogensulfat wird mit 0,1-n. Jodlösung titriert. Der Formaldehyd wird unter diesen Bedingungen vom Jod nicht oxydiert.

Um die Übertragbarkeit der Methode auf Formol-Casein zu prüfen, stellten wir Testversuche wie *Highberger* und *Retzsch* an. Zu

<sup>1)</sup> *Melland's Textilber.* **20**, 646 (1939).

<sup>2)</sup> *J. Am. Leather Chem. Assoc.* **33**, 341 (1938).

diesem Zweck wurde im Destillierkolben eine bestimmte Menge Casein mit einer genau bekannten Menge Formaldehyd (verdünnte Lösung) übergossen und ca. 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die Formaldehydmenge betrug 2,6% vom Caseingewicht, was ungefähr dem maximalen Aufnahmevermögen des letzteren entspricht. Nun wurde genau nach *Highberger* und *Retsch* mit 2-normaler Schwefelsäure destilliert und der Formaldehyd in der Vorlage bestimmt. Es wurde jedoch nur 85% des eingesetzten Formaldehydes wiedergefunden. Variation der Destillationsgeschwindigkeit zwischen  $\frac{1}{2}$  und 3 Stunden hatte keinen wesentlichen Einfluss auf das Resultat.

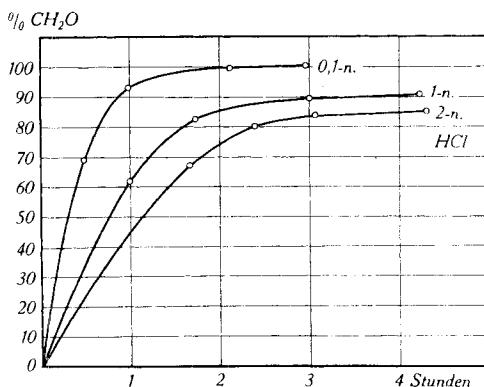
Um uns zu vergewissern, dass nicht unsererseits irgendein Fehler gemacht worden war, destillierten wir eine gewogene Menge chemisch reinen Urotropins (Hexamethylen-tetramin) mit 2-n. Schwefelsäure und erhielten 98,9% der berechneten Formaldehydmenge, was als gut bezeichnet werden darf. Ferner stellten wir Versuche mit Gelatine an, also mit schwach abgebautem Kollagen, indem wir wie zuvor beim Casein eine genau bekannte Menge Formaldehyd zusetzten. Bei der Destillation gingen 99,7% desselben über, womit die Ergebnisse von *Highberger* und *Retsch* bestätigt wurden. Danach stand es also sicher, dass die beim Kollagen ausgezeichnete Resultate liefernde Methode beim Casein systematisch viel zu tiefe Werte ergibt<sup>1)</sup>. Worauf dieser Unterschied im Verhalten der beiden Formol-Proteine beruht, können wir heute noch nicht sagen; die Frage ist aber Gegenstand weiterer Untersuchungen.

Dagegen gelang es uns nach Durchführung einer grossen Zahl vielseitig variierten Testversuche, die Methode von *Highberger* und *Retsch* so abzuändern, dass sie auch beim Casein<sup>2)</sup> ausgezeichnete Resultate liefert. Man muss nämlich die Destillation einfach bei einer viel niedrigeren Wasserstoffionenkonzentration vornehmen. Es ergibt sich also die überraschende Tatsache, dass grade, wenn man mit einer hohen Wasserstoffionenkonzentration destilliert, der Formaldehyd nicht quantitativ aus dem Casein abgespalten werden kann. Wahrscheinlich wird unter diesen Bedingungen ein Teil desselben in irgendwelchen, irreversibel verlaufenden Nebenreaktionen verbraucht. Dass es sich dabei nicht einfach um eine Oxydation durch die Schwefelsäure handelt, ergibt sich daraus, dass die Verhältnisse bei Verwendung der ebenfalls starken, aber auf keinen Fall oxydierend wirkenden Salzsäure genau gleich sind. Unsere Figur gibt den zeitlichen Gang der Formaldehydabspaltung mit 2-, 1- und 0,1-normaler Salzsäure bei gleichmässiger Destillationsgeschwindigkeit wieder.

<sup>1)</sup> Casein ist sicher nicht das einzige Protein, dessen Formaldehydverbindung nach *Highberger* und *Retsch* zu niedrige Analysenresultate ergibt. Analog wie Casein verhält sich z. B. auch das Vitellin, das Phosphoprotein des Eiweißs. Weiter haben wir die Untersuchung in dieser Richtung noch nicht ausgedehnt.

<sup>2)</sup> Das gleiche gilt für das Vitellin.

Es wurde in diesem Fall allerdings nicht gewöhnlich destilliert, sondern Wasserdampf mit einer schwachen Zusatzheizung durch den Kolben geblasen, so dass die Konzentration der Säure über die ganze Dauer des Versuches konstant blieb. Von Zeit zu Zeit wurde die Vorlage gewechselt und der bis zu diesem Zeitpunkt übergegangene Formaldehyd titrimetrisch bestimmt. Diese Werte sind in der Figur auf der vertikalen Achse gegen die Zeit aufgetragen, und zwar in % der dem Casein anfangs zugesetzten Gesamtmenge. Man erkennt klar, dass mit 2- und 1-normaler Säure auch bei noch so langem Destillieren der Formaldehyd nicht quantitativ aus dem Casein herausgeholt werden kann; die Kurven nähern sich asymptotisch einem zu niedrigen Grenzwert. Mit 0,1-n. Salzsäure hingegen ist der Formaldehyd nach 3 Stunden quantitativ übergetrieben.



Da wir natürlich bestrebt waren, die Methode möglichst einfach zu gestalten, liessen wir jetzt das Einblasen von Wasserdampf weg und destillierten ganz einfach mit 0,1-n. Salz- oder Schwefelsäure ab. Die so erhaltenen Werte lagen aber wieder merklich unter 100 %, da mit dem Fortschreiten der Destillation die Konzentration der Säure ständig zunimmt. Daraus ergeben sich zwei Möglichkeiten, um mit einer gewöhnlichen Destillation zu richtigen Resultaten zu kommen:

1. Man benützt die schwächere Phosphorsäure mit einer Anfangskonzentration von 0,1-molar, denn auch die Konzentration 1- bis 2-molar, wie sie am Schluss der Destillation erreicht wird, ermöglicht noch eine glatte, quantitative Abspaltung des Formaldehyds.

2. Wird aus irgendeinem Grunde Salzsäure oder Schwefelsäure vorgezogen, so muss man mit der Anfangskonzentration auf 0,01-normal heruntergehen. Beim Ansatz ist dann allerdings das Säure-bindungsvermögen des Caseins zu berücksichtigen, das zudem mit fortschreitender Hydrolyse immer grösser wird. Eine völlige Abstumpfung der Säure darf nämlich nicht stattfinden, denn wir haben festgestellt, dass bei neutraler Reaktion (Destillation mit blossem Wasser) der Formaldehyd auch wieder nicht vollständig abgespalten

werden kann, jedenfalls nicht in vernünftigen Zeiten. Für eine rasche und doch quantitative Abspaltung und Übertreibung des Formaldehyds ist also grade eine mittlere, nicht sehr hohe Wasserstoffionenkonzentration am günstigsten. Auf Grund unserer Versuche können wir folgende Arbeitsweise empfehlen:

#### Apparatur.

Sie besteht aus einem 500 cm<sup>3</sup> Destillierkolben, der mittelst Glasschliff mit einem 20 bis 25 cm langen, absteigenden Kühler verbunden ist. Letzterer mündet in einen Vorstoss, der lang genug ist, um auf den Boden eines 250 cm<sup>3</sup> Messkolbens zu reichen.

#### Destillation.

Ca. 0,5 g des Formol-Caseins werden mit einem Wägeröhrchen in den Destillierkolben eingewogen<sup>1)</sup> und mit 230 cm<sup>3</sup> ca. 0,1-molarer Phosphorsäure (oder 0,01-normaler Salz- oder Schwefelsäure) übergossen.

Um bei der Destillation das Stossen zu vermeiden, wird ein Siedestäbchen in den Kolben gestellt; Siedesteinchen sind weniger geeignet, da sie ihre Wirksamkeit bald verlieren. In die Vorlage, einen 250 cm<sup>3</sup> Messkolben, gibt man 8 cm<sup>3</sup> einer ca. 1-proz. Natriumhydrogensulfatlösung. Der Vorstoss des Kühlers taucht in die Hydrogensulfatlösung ein. Man destilliert nun, bis die Säure im Kolben im Verlauf von ca. 1<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Stunden auf 7 bis 10 cm<sup>3</sup> eingedampft ist. Besonders anfangs muss das Tempo der Destillation überwacht werden und darf nicht zu rasch sein, damit nicht Schaum aus dem Kolben in die Vorlage gelangt. Vollständig entfettete Caseinproben neigen besonders stark zum Schäumen. Diesem Übelstand kann durch Zusatz einer Spur Stearinsäure begegnet werden. Bis zur Auflösung des Caseins, welche mit 0,1-m. Phosphorsäure rasch, mit 0,01-n. Salz- oder Schwefelsäure langsam oder gar nicht eintritt, empfiehlt es sich, den Kolben gelegentlich zu schwenken, damit das an den Kolbenwänden über der Flüssigkeit kleben gebliebene Casein wieder benetzt wird. Nach beendeter Destillation spritzt man Kühler und Vorstoss mit Wasser in die Vorlage ab und füllt dieselbe bis zur Marke auf. Es ist nötig, bis zur Titration 1 Stunde stehen zu lassen, da sonst die Bildung der Formaldehyd-Hydrogensulfit-Verbindung nicht beendet ist.

#### Titration.

Es ist zweckmäßig, die Titration nur mit einem aliquoten Teil des Destillates vorzunehmen, um sie eventuell wiederholen zu können. Wir empfehlen, 50 cm<sup>3</sup> abzupipettieren, die nach Zugabe von 5 cm<sup>3</sup> 0,5-proz. Stärkelösung mit Jodlösung bis zur schwachen Blaufärbung

<sup>1)</sup> Wenn man absolut genaue Werte wünscht, muss der Feuchtigkeitsgehalt des Caseins bestimmt und eingerechnet werden.

titriert werden<sup>1)</sup>. Die verbrauchte Jodmenge wird nicht gemessen. Die Lösung wird nun mit 10 cm<sup>3</sup> 95-proz. Äthylalkohol und — nach Durchmischen — mit 3 cm<sup>3</sup> 5-proz. Natriumcarbonatlösung versetzt, worauf sie sich entfärbt. Jetzt titriert man möglichst rasch mit 0,01-n. Jodlösung. Die Jodfarbe der Stärke ist wegen des Alkohols kein reines Blau mehr, sondern hat einen rötlichen Ton. Der Endpunkt ist erreicht, wenn die Farbe mindestens 1 Minute erhalten bleibt und auch auf Zugabe einiger Tropfen Natriumcarbonatlösung nicht verschwindet. Für die Berechnung gilt:

1 cm<sup>3</sup> 0,01-n. Jodlösung entspricht 0,00015 g CH<sub>2</sub>O<sup>2</sup>).

### Fehlerbreite.

Dieselbe beträgt etwa 1 % der gefundenen Formaldehydmenge, wenn diese ihrerseits zwischen 1 bis 3 % des Caseingewichtes liegt. Wir fanden z. B. bei dreimaliger Wiederholung eines wie vorn beschriebenen Testversuches für technisches Casein:

% der zugegebenen Formaldehydmenge:	99,6
	99,7
	100,1

Destilliert man im Blindversuch 0,5 g technisches Casein ohne Formaldehyd, so findet man einen scheinbaren Gehalt von 0,00015 g = 0,033 % des Caseingewichtes (lufttrocken). Dasselbe ist mit gereinigtem Casein nach *Hammarsten* der Fall. Im allgemeinen wird man diesen Fehler vernachlässigen können, anderenfalls kann am Resultat die entsprechende Korrektur angebracht werden.

Bern, Chemisches Institut der Universität, org. Abteilung.

---

## 29. Streulichtmessungen an Magermilch

von W. Lotmar und Hs. Nitsehmann.

(15. II. 41.)

In einer kürzlich erschienenen Arbeit vertreten *A. Künzel* und *K. Doehter*<sup>3)</sup> die Ansicht, dass das Casein in der Magermilch kugelige kolloide Teilchen bildet, welche bei Zusatz von Säuren oder Alkalien quellen. Die in solchen Lösungen beobachtete Strömungsdoppelbrechung soll nicht auf einer Orientierung nichtkugeliger, sondern auf der Deformierung derartig gequollener kugeliger Teilchen beruhen. Ihre Ansicht stützen die Verfasser unter anderem durch

<sup>1)</sup> Wir titrieren bis in die Nähe des Endpunktes mit 0,1-n., fertig mit 0,01-n. Jodlösung.

<sup>2)</sup> Die Einstellung der Jodlösung geschieht mit 0,01-n. Thiosulfatlösung, die ihrerseits am bequemsten mit Kaliumbromat als Urtiter bestimmt wird.

<sup>3)</sup> Koll.-chem. Beih. 51, 277 (1940). Dasselbst auch weitere Literatur.