

# Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft.

1931, Nr. 8.

— Abteilung B (Abhandlungen) —

16. September.

## 298. Wolfgang Ponndorf: Argentometrische Aldehyd-Bestimmung<sup>1)</sup>.

[Aus d. Direktorial-Abteil. (Med. Univ.-Klinik) d. Krankenhauses Eppendorf.]  
(Eingegangen am 11. Mai 1931.)

Bei den meisten Aldehyd-Bestimmungen wird die große Reaktionsbereitschaft des doppelt gebundenen Sauerstoffatoms der Aldehydgruppe analytisch ausgewertet. Die Carbonylgruppe ist aber auch in Ketonen reaktionsfähig vorhanden, so daß die Spezifität dieser Methoden gering ist (Sulfit- und Kondensations-Methoden).

Charakteristisch für die Aldehydgruppe ist die Reaktionsfähigkeit des C-ständigen Wasserstoffatoms dieser Gruppe. Die von Tollens gefundene und qualitativ ausgewertete Reduktionswirkung dieses H-Atoms auf Silberoxyd<sup>2)</sup> gestattet eine Differenzierung gegen Ketone. W. Stepp und R. Fricke<sup>3)</sup> haben den Versuch gemacht, die Reduktion von Silberoxyd-Ammoniak durch Aldehyde zur quantitativen Bestimmung von Acetaldehyd zu benutzen. Diese Methode ist für physiologische und medizinische Untersuchungen wegen der Abgrenzungsmöglichkeit von Acetaldehyd gegen Aceton von Wert, hat aber den Nachteil, umständlich und zeitraubend zu sein; auch ist ihre Genauigkeit gering. Ich habe versucht, die argentometrische Aldehyd-Bestimmung nicht nur für Acetaldehyd, sondern auch für andere Aldehyde hinsichtlich Genauigkeit, Empfindlichkeit und Zeitbedarf soweit zu verbessern, daß sie mit den Sulfit- und Kondensations-Methoden in Wettbewerb treten konnte<sup>4)</sup>.

Silberoxyd wird in Gegenwart von Wasser von Aldehyden zu Silber reduziert. Die Reaktions-Geschwindigkeit hängt von der Art des Aldehydes ab. Formaldehyd, Hexosen (Glucose, Fructose) und Acetaldehyd werden schnell oxydiert. Bei der Reihe der aliphatischen Aldehyde nimmt die Reak-

<sup>1)</sup> Die vorliegende Arbeit wurde, neben anderen Arbeiten, in den Jahren 1927—1931 im Eppendorfer Krankenhause ausgeführt. Fr! A. v. Schrader unterstützte mich bei der Ausarbeitung der Verfahren durch äußerst gewissenhafte Ausführung einer großen Anzahl von Bestimmungen.

<sup>2)</sup> B. Tollens, B. 15, 1635 [1882]. Die Versuche von Tollens, die Reaktion auch zu quantitativer Bestimmung zu benutzen, wurden nicht beendet.

<sup>3)</sup> W. Stepp u. R. Fricke, Ztschr. physiol. Chem. 116, 293 [1921]; R. Fricke, Ztschr. physiol. Chem. 118, 241 [1922].

<sup>4)</sup> Es sind eine Reihe von quantitativen Verfahren bekannt, bei denen die Aldehyd-Bestimmung auf der Reduktion von Silberoxyd beruht: B. Tollens, B. 15, 1830 [1882], 16, 917, 921 [1883]; R. Orchard, Ztschr. analyt. Chem. 36, 719 [1897]; L. Vanino, Ztschr. analyt. Chem. 40, 720 [1901]. Es handelt sich bei diesen aber um gravimetrische Verfahren. Nur Orchard deutet die titrimetrische Bestimmungsmöglichkeit an.

tionsgeschwindigkeit mit wachsender Länge der Kohlenstoffkette ab. Benzaldehyd wird nur langsam oxydiert.

Tollens, sowie Stepp und Fricke benutzten Silberoxyd-Ammoniak bei möglichst geringem Ammoniak-Gehalt. Ammoniak bewirkt die Lösung des Silberoxydes durch Bildung der komplexen Ionen  $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2$ . Da die komplexe Silber-ammoniak-Verbindung aber mit Aldehyden nicht reagiert, sondern nur die kleine Menge an freiem Silberoxyd, das durch Hydrolyse im Gleichgewicht vorhanden ist, bewirkt das Ammoniak eine Hemmung der Reaktions-Geschwindigkeit. Mit steigender Ammoniak-Menge wird die Hemmung immer stärker (also auch bei Silberoxyd-Verbrauch), so daß gegen Ende der Reaktion ein unvollkommener Reaktionsablauf zu erwarten ist. Die Hemmung wird noch dadurch vergrößert, daß Aldehyde mit Ammoniak Verbindungen eingehen, wodurch die Reaktionsgeschwindigkeit vom rückwärtigen hydrolytischen Zerfall dieser Verbindungen abhängig wird.

Ich ließ daher das Ammoniak weg und versuchte, mit ausgefälltem Silberoxyd zu arbeiten<sup>5)</sup>. Da dessen wirksame Oberfläche jedoch klein ist und die Reaktionszeit des Verfahrens von Stepp und Fricke bereits 12 Stdn. betrug, war es notwendig, die Reaktionsgeschwindigkeit in anderer Weise zu erhöhen. Hierzu ergaben sich 3 Wege:

Der einfachste war die Temperatur-Steigerung. Aus sehr verdünnten Lösungen lassen sich bekanntlich auch leicht flüchtige, aber gut lösliche Verbindungen nur schwer herausdestillieren. Da gerade die niedrigsiedenden Aldehyde (Formaldehyd, Acetaldehyd) erheblich wasser-löslich sind, war es möglich, gegen Ende der Reaktion, d. h. wenn die Aldehyd-Konzentration gering und die Reaktionsgeschwindigkeit klein geworden war, durch Erhitzen die Reaktionsgeschwindigkeit ohne erheblichen Destillationsverlust zu steigern.

Zweitens stellte ich fest, daß durch Alkali-Zugabe die Reaktionsgeschwindigkeit (im Gegensatz zum Ammoniak) beträchtlich erhöht werden konnte<sup>6)</sup>. Gegen Alkalisierung bestanden zunächst Bedenken, da eine Reihe von Kondensationsreaktionen (Cannizzaro-Reaktion, Aldol-Bildung usw.) in alkalischer Reaktion Aldehyde leicht verändern<sup>7)</sup>.

Diese Gefahr ist aber nur groß, wenn die Aldehyd-Konzentration so groß ist, daß die Moleküle häufig in den gegenseitigen Anziehungsbereich gelangen, da zu allen diesen Kondensationsreaktionen vorherige Anlagerung an ein anderes Aldehyd-Molekül notwendig ist. Man konnte erwarten, daß bei kleinen Aldehyd-Konzentrationen, also dann, wenn die Reaktionsgeschwindigkeit klein geworden war, die Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit durch Alkali-Zugabe keine erheblichen Fehler mehr verursachen würde. Das konnte experimentell bestätigt werden. Durch Kombination dieser beiden Beschleunigungs-Möglichkeiten konnte die Reaktionsgeschwindigkeit bei Verwendung von ausgefälltem Silberoxyd so erhöht werden, daß die Reaktionszeit von 12 Stdn. auf 15 Min. herabgesetzt werden konnte.

<sup>5)</sup> Die schädliche Wirkung des Ammoniaks wurde zuerst von B. Tollens, B. 15, 1830 [1882], erkannt.

<sup>6)</sup> Diese Beobachtung hat zuerst L. Vanino beim Formaldehyd gemacht, a. a. O.

<sup>7)</sup> Stepp u. Fricke wollten daher Alkalisierung auf jeden Fall vermeiden.

Zur Bestimmung des Silber-Verbrauches wurde das unverbrauchte Silberoxyd mit Kaliumjodid zurückeritriert, und die Bestimmung des durch Schwefelsäure gelösten unverbrauchten Silberoxydes wurde mit Jodstärke als Indicator in der Form ausgeführt, die ich vor kurzem beschrieben habe<sup>8)</sup>.

Die Bestimmung des Acetaldehydes wurde in der vorliegenden Arbeit besonders eingehend untersucht. Wir stellten zunächst für Acetaldehyd die notwendigen Reaktions-Bedingungen fest. Die Bedingungen dieser Urform mußten dann für diejenigen Aldehyde genügen, die ebenso rasch oder schneller als Acetaldehyd reagieren. Das sind: Formaldehyd, Hexosen (Glucose, Fructose), Crotonaldehyd.

Die zuerst ausgearbeitete Form der Acetaldehyd-Bestimmung (Makromethode I) gab bei sorgfältiger Ausführung innerhalb gewisser Grenzen recht gute Resultate.

Die eingehendere Untersuchung deckte aber eine Reihe von Mängeln auf. 1. Die Gleichmäßigkeit der Bestimmung war so sehr von der Güte der Ausführung abhängig, daß es schwer hielt, eine gute Übereinstimmung einzuhalten. 2. Bei der Bestimmung langsam reagierender Aldehyde wurden zu geringe Werte gefunden (Benzaldehyd 86%). 3. Bei kleinen Mengen Acetaldehyd wurde die Bestimmung ungenau, und bei sehr kleinen Mengen versagte sie vollkommen.

Es wurden daher noch 4 Modifikationen der ursprünglichen Methode ausgearbeitet. Das sind: Makro-methode II für eine besonders genaue Bestimmung von Acetaldehyd (und entsprechenden Aldehyden); Makro-methode III für Bestimmung langsam reagierender Aldehyde (Propion- bis Benzaldehyd); Mikro-methode I für einfache Bestimmung kleiner Acetaldehyd-Mengen (0.1—0.4 mg); Mikro-methode II für Bestimmung sehr kleiner Mengen Acetaldehyd und entsprechender Aldehyde (0.001—0.05 mg).

Zur Ausarbeitung der neuen Verfahren mußte als dritter Weg zur Beschleunigung der Reaktionsgeschwindigkeit die systematische Vergrößerung der wirksamen Oberfläche des Silberoxydes herangezogen werden. Dadurch wurde dann auch die Gleichmäßigkeit der Bestimmungen erhöht. Bei der Makro-methode II wurde durch gleichzeitige Ausfällung von Magnesiumhydroxyd eine feinere Verteilung des ausgefällten Silberoxydes erhalten. Infolge der Vergrößerung der wirksamen Oberfläche des Silberoxydes konnte auf die Temperatur-Erhöhung verzichtet werden, so daß in geschlossenem Gefäß geschüttelt werden konnte. Die Reaktion lief nun schon bei geringer Alkalisierung zu Ende, und die Gleichmäßigkeit der Bestimmung ließ sich innerhalb 1.6<sup>0</sup>/<sub>100</sub> Fehlerbreite halten, als mit einer verfeinerten Titrationsmethode gearbeitet wurde, deren Übereinstimmung eine Fehlerbreite von 0.2<sup>0</sup>/<sub>100</sub> erwarten ließ.

Bei der Makro-methode III wurde durch Vergrößerung der angewandten Menge und stärkere Alkalisierung eine — auch zur Bestimmung von Benzaldehyd — ausreichende Reaktionsgeschwindigkeit erhalten.

Um Mengen von weniger als 0.5 mg einigermaßen genau bestimmen zu können, wurde die Mikro-methode I ausgearbeitet. Bei dieser Methode wurde durch Verwendung einer kolloidalen Silberoxyd-Lösung die notwendige Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit erzielt. Die Empfindlichkeit der

<sup>8)</sup> Wolfgang Ponndorf, Feintitration, II, Ztschr. analyt. Chem. 85, 8 [1931].

Silber-Titration mit Kaliumjodid gestattete noch, mit 0.01-n. Lösungen aus Mikro-büretten scharfe Umschläge zu erhalten.

Schließlich wurde noch für sehr kleine Aldehyd-Mengen (0.001—0.05 mg in 1 ccm) die Mikro-methode II entwickelt, bei der nun ein ganz neuartiger Weg eingeschlagen werden mußte. Das Silberoxyd wurde hierbei ebenfalls kolloidal gelöst in Reaktion gebracht. Die Hemmung der Reaktionsgeschwindigkeit durch das notwendige Schutzkolloid, die bei der vorherigen Methode noch vorhanden war, wurde durch Verwendung eines besonders geformten Schutzkolloides (Kieselsäure) weitgehend beseitigt. Die Reaktion erwies sich auffallenderweise als sehr licht-empfindlich<sup>11)</sup>. Durch Belichtung wurde ihre Geschwindigkeit um die Hälfte herabgesetzt. Es wurde daher zwecks Ausschlusses des Lichtes in Reagensrohren gearbeitet, die in einem geschlossenen Blechtopf ausreagierten. Die außerordentlich hohe Reaktionsgeschwindigkeit, die hierbei erzielt wurde, gestattete, ohne Temperatur-Erhöhung bei mäßiger Alkalisierung auszukommen.

Die kolloidale Lösung des entstandenen Silbers erlaubte es, dasselbe direkt mit Jodlösung zu titrieren. Ferner konnte infolge der hohen Farbkraft der kolloidalen Silberlösung die Bestimmung in kürzester Zeit sowohl colorimetrisch als auch titrimetrisch ausgewertet werden. Die Bestimmung hat Aussicht, zur schnellen und einfachen Blutzucker-Bestimmung in einem Tropfen Blut dienen zu können.

#### Beschreibung der Versuche.

Makro-methode I (Acetaldehyd-Bestimmung 5—45 mg).

Zu 25 ccm 0.1-n. AgNO<sub>3</sub>-Lösung (Bürette) im 100-ccm-Meßkolben werden 5—10 ccm (Nachwasch-Pipette<sup>9)</sup>) Acetaldehyd-Lösung (5—45 mg) und unter Umschwenken 12.5 ccm 0.2-n. Natronlauge (SiO<sub>2</sub>- und CO<sub>2</sub>-frei, andernfalls 2.5 ccm 0.2-n. NaOH-Lösung durch 5 ccm 0.1-n. Ba(OH)<sub>2</sub>-Lösung ersetzt) gegeben. Nach 2 Min. Schütteln (Glastrichter mit Gummistopfen aufgesetzt) Zugabe von 6.3 ccm 0.2-n. NaOH-Lösung und 3 Min. Schütteln. Dann 5 Min. Schütteln in siedendem Wasserbad (Kolben nach und nach tiefer eingetaucht; Schütteln besteht in kräftiger Rotation der Flüssigkeit, erzeugt durch kurze Stöße im Handgelenk). Darauf: 1 ccm H<sub>2</sub>O durch Trichter, Zugabe von 5 ccm 1-n. KOH-Lösung und 5 Min. Schütteln. Nach Abkühlung Zugabe von 5 ccm 20-proz. Schwefelsäure und Auffüllen auf 100 ccm (20<sup>0</sup>). Nach gutem Durchmischen Filtration (Rundfilter Schleicher & Schüll Nr. 589; erste 20 ccm Filtrat verworfen). 50 ccm des Filtrates (Nachwasch-Pipette<sup>9)</sup>) werden mit 0.1-n. Kaliumjodid-Lösung übertitriert und nach Zugabe einer Titrationsbasis (20 ccm H<sub>2</sub>O, 2 ccm 0.002-n. KJ<sub>3</sub>-Lösung, 2 ccm 1-proz. Stärke-Lösung mit 0.002-n. AgNO<sub>3</sub>-Lösung entfärbt) mit 0.1-n. AgNO<sub>3</sub>-Lösung zurücktitriert<sup>10)</sup>.

Eine Nullwert-Reihe (Büretten mit verlängerter Ablaufzeit) und Diopter-Ablesung<sup>12)</sup> ergab: 0.072, 0.033, 0.001, 0.089, 0.034, 0.032 ccm 0.1-n.

<sup>9)</sup> Wolfgang Ponndorf, Feintitration, I, Ztschr. analyt. Chem. 84, 299 [1931].

<sup>10)</sup> Einzelheiten über Silber-Titration mittels Kaliumjodids s. Wolfgang Ponndorf, Feintitration, II, Ztschr. analyt. Chem. 85, 5—9 [1931].

<sup>11)</sup> Beschleunigte Ausflockung durch Licht; vergl. P. B. Ganguly u. N. R. Dhar, Kolloid-Ztschr. 31, 16 [1922], sowie P. C. Sinha und P. B. Ganguly, Kolloid-Ztschr. 54, 147 [1931].

<sup>12)</sup> a. a. O., Feintitration, I, S. 301—304. Die mit dieser Methodik erreichbare Übereinstimmung beträgt 0.05—0.1% (45 ccm).

AgNO<sub>3</sub>-Lösung. Im Mittel 0.0435 ccm. Die Berücksichtigung des Nullwertes ist für genauere (über 0.5%) Bestimmungen erforderlich.

Acetaldehyd-Bestimmungen: 1.5780 g reiner Acetaldehyd (Sdp. 20.3–20.4° [unkorr.]), hergestellt aus Äthylalkohol nach modif. Verfahren von Fricke und Havestadt<sup>13</sup>); unter Stickstoff fraktioniert und in Ampullen eingeschmolzen; 12 Tage bei 0° aufbewahrt, wurden in 250.0 ccm Wasser gelöst. Davon je 5.0275 ccm für eine Bestimmung verwendet, ergaben:

Nr.	Gefundener Verbrauch an 0.1-n. Silbernitrat-Lösung ccm	an Acetaldehyd in % des Angebotes gefunden
1	14.445	100.22
2	14.415	100.01
3	14.163	98.26
4	14.265	98.96
5	14.415	100.01
6	14.444	100.21

Bei 4 Werten Übereinstimmung innerhalb 0.2%. 2 Ausreißer-Bestimmungen mit 1.75% bzw. 1.04%<sup>14</sup>).

Als sichere Bestimmungsmethode war daher Makro-methode I noch nicht zu betrachten.

Makro-methode II (Acetaldehyd-Bestimmung für 5–45 mg).

Um die erreichbare Genauigkeit der Bestimmung mit aller Sicherheit feststellen zu können, wurde eine verfeinerte Titrationstechnik angewendet, die bei früheren Untersuchungen eine Übereinstimmung von 0.01% geliefert hatte<sup>15</sup>).

Gang der Bestimmung: Im 100-ccm-Meßkolben werden gegeben: 0.5 ccm 1-n. MgSO<sub>4</sub>-Lösung, 25 ccm 0.1-n. AgNO<sub>3</sub>-Lösung (Nachwasch-Pipette) 0.1-n. AgNO<sub>3</sub>-Lösung auf Kochsalz-Lösung mit 0.01–0.02% Genauigkeit eingestellt nach Ponndorf<sup>16</sup>) und 10 ccm Acetaldehyd-Lösung (Nachwasch-Pipette) mit 5–45 mg Acetaldehyd. Hierzu unter Umschwenken 13 ccm 0.2-n. Natronlauge aus schnell ablaufender Bürette (Theorie + 0.5 ccm Überschuß). Nach Aufsetzen des Glasstopfens wird der Inhalt des Meßkolbens sofort 5 Min. kräftig geschüttelt. Nach weiterer Zugabe von 5.7 bis 6.0 ccm 0.2-n. Natronlauge wird nochmal 5 Min. geschüttelt. Der Stopfen wird nach Abnehmen sorgfältig mit etwa 1 ccm H<sub>2</sub>O abgespült. Dann Zugabe von 5 ccm 1-n. Kalilauge (unter dauerndem Schwenken in Absätzen von

<sup>13</sup>) R. Fricke u. L. Havestadt, Ztschr. angew. Chem. **86**, 546 [1923].

<sup>14</sup>) Die Intensität des Schüttelns ist wesentlich zur Erreichung der hohen Werte. Niedrigere Werte treten auch ein, wenn die Reaktionsgeschwindigkeit zu rasch gesteigert wird (plötzliche Temperatursteigerung). Frühzeitig graugrüne Verfärbung (normal tiefschwarz) und Zusammenballung des Silberoxyds (durch oberflächliche Schicht metallischen Silbers bedingt) sind die Anzeichen einer mangelhaften Tiefenwirkung und damit zu niedriger Resultate.

<sup>15</sup>) Zur Zugabe der 0.1-n. Lösungen wurden Nachwasch-Pipetten benutzt. Titration erfolgte mit 0.01-n. Lösungen aus Büretten mit verlängerter Auslaufzeit bei Diopter-Ablesung (a. a. O., Feintitration, I, S. 315). 3 Nullwerte der Makro-Methode I ergaben: 0.0584, 0.0548, 0.0519 ccm 0.1-n. AgNO<sub>3</sub>-Lösung [größte Fehlerbreite 0.0065 ccm = 0.026% (25 ccm)].

<sup>16</sup>) a. a. O., Feintitration, I, S. 319.

etwa 1 ccm nach je 10 Sek.) und 2 Min. umschwenken. Hiernach Neutralisation (stufenweise) mit 5 ccm 20-proz. Schwefelsäure. Bei 20° wird auf 100 ccm aufgefüllt und sorgfältig gemischt. Von der filtrierten Lösung werden wie oben 50 ccm zur Bestimmung des noch vorhandenen Silbers verwendet. Entsprechend der geänderten Titrationstechnik wird mit 0.01-n. Lösungen (KJ und AgNO<sub>3</sub>) gearbeitet. Bei Nullwert oder geringer Aldehyd-Menge Zugabe an 0.1-n. KJ-Lösung durch Nachwasch-Pipette. Berechnung der Resultate unter Berücksichtigung der Faktoren von Temperaturen, Lösungen, Meßkolben, Pipetten und Büretten. 3 Nullwerte der Reagenzien (Makromethode II) ergaben:

Nr.	0.1-n. Silbernitrat-Lösung		Nullwert ccm
	angewandt ccm	wiederbestimmt ccm	
1	24.7941	24.7777	0.0164
2	24.7941	24.7723	0.0218
3	24.7941	24.7731	0.0210
		Mittelwert . . . . .	0.0197
		Größte Fehlerbreite	0.0054 (0.022%).

Bei Verbrauch von 16.5 ccm 0.1-n. Silbernitrat-Lösung würde man eine Fehlerbreite von 0.035 % zu erwarten haben.

Von einer Acetaldehyd-Lösung von 0.92330 g in 256.098 ccm Wasser (20.00°) wurden je 10.07501 ccm zur Bestimmung verwendet. Der Acetaldehyd vom Sdp. 20.3° (unkorr.) war 3-mal unter Stickstoff fraktioniert und unter Stickstoff in Ampullen eingeschmolzen worden. Nach 3-tägiger Aufbewahrung auf Eis wurde die obige Lösung hergestellt. Wägung des Aldehydes unter Berücksichtigung des dampfförmigen und des flüssigen Anteiles und des Luft-Auftriebes in Ampulle eingeschmolzen. Rückbestimmung von Glasvolumen (Wägung) nach Lösung des Aldehydes in kaltem Wasser (Boden der Ampulle durchstoßen, Ampulle ausgewaschen und wieder entfernt). Die frisch hergestellte Lösung wurde unter Stickstoff in Mengen von 13.5 ccm in 18 Ampullen eingeschmolzen und am folgenden Tage zu den Bestimmungen verwendet (aufbewahrt bei 0°).

Es wurde gefunden bei 36.3277 mg Acetaldehyd je Best.:

Nr.	Verbrauch an 0.1-n. Silber-	Acetaldehyd	% der
	nitrat-Lösung (nach Abzug des Nullwertes von 0.0197 ccm ccm)		
1	16.5303	36.3932	100.18
2	16.5104	36.3503	100.06
3	16.5329	36.3990	100.19
4	16.5358	36.4055	100.21

Mit einem Überwert von 0.16 % und einer Übereinstimmung von ebenfalls 0.16 % kann man also mit dieser Methode die Genauigkeitsgrenzen der Büretten-Titration (0.1—0.2 %) noch erschöpfen.

Die Genauigkeit der Pipetten-Titration (0.01—0.02 %) kann nicht mehr ausgenutzt werden<sup>17)</sup>.

<sup>17)</sup> Um Zeit zu sparen, wird man daher Makro-Methode II am besten mit der bei Makro-Methode I beschriebenen Titrationstechnik ausführen, deren Genauigkeit für Makro-Methode II noch ausreicht (vergl. a. a. O., Feintitration, II, S. 41).

Bei Mengen unter 4 mg Acetaldehyd wurde die Bestimmung infolge ungenügender Reaktion unsicher<sup>18)</sup>. Es wurde gefunden:

Nr.	Acetaldehyd angewandt in mg	Verbrauch o.1-n. Silbernitrat-Lösung ccm	Acetaldehyd gefunden in mg	% der Theorie
1	4.32508	1.9407	4.27270	98.79
2	4.32635	1.9617	4.31894	99.83
			Im Mittel:	99.31
3	1.4544	0.6280	1.3826	94.43
4	1.4641	0.6290	1.3848	94.59
			Im Mittel:	94.51

Makro-methoden I und II können zur Bestimmung anderer Aldehyde dienen, wenn deren Reaktionsgeschwindigkeit die des Acetaldehydes erreicht (Formaldehyd, Hexosen).

Orientierende Versuche ergaben beim Formaldehyd theoretische Werte<sup>19)</sup>. Bei Zucker-Bestimmungen kann man mit theoretischen Werten nicht rechnen<sup>20)</sup>. Ich ermittelte bisher erst provisorisch den Erfahrungsfaktor für Glucose-Bestimmung mit Makro-methode I und II. Als Untersuchungsmaterial diente eine ältere Probe Traubenzucker (Merck) „chem. rein, wasser-frei“<sup>21)</sup>. Nach Makro-methode II (Makro-methode I ergab einen entsprechenden Wert) wurde gefunden:

Nr.	Traubenzucker angewandt mg	Verbrauch Silbernitrat-Lösung ccm	1.0 ccm o.1-n. Silbernitrat-Lösung entspricht mg Traubenzucker
1	29.36	20.878	1.4062
2	29.36	20.753	1.4147
3	29.36	20.800	1.4115
4	10.88	7.724	1.4083

<sup>18)</sup> Da die Übereinstimmung auch bei Mengen von etwa 1 mg noch gut ist, kann man bei kleinen Mengen, ähnlich wie ich es bei der halb-spezifischen Bestimmung kleiner Alkohol-Mengen getan habe (Wolfgang Ponndorf, Ztschr. analyt. Chem. 80, 401 [1930]), mit Erfahrungsfaktoren arbeiten. Mit den weiter unten mitgeteilten Mikro-methoden kann das aber viel bequemer und wohl ebenso genau geschehen.

<sup>19)</sup> Für die Bestimmung von Formaldehyd durch Silberoxyd-Reduktion sind gravimetrische Verfahren bekannt (R. Orchard, Ztschr. analyt. Chem. 86, 719 [1897]; L. Vanino, Ztschr. analyt. Chem. 40, 720 [1901]). Die Gefahr, daß durch Oxydation der gebildeten Ameisensäure Überwerte auftreten, scheint nur in saurer oder neutraler Lösung zu bestehen. Während das Verfahren von Orchard tatsächlich den Formaldehyd bis zur Kohlensäure oxydiert (4 Stdn. am Rückflußkühler in schwach ammoniakalischer Lösung, Kochen) liefert das Verfahren von Vanino (in alkalischer Lösung) theoretische Werte für Oxydation bis zur Ameisensäure. Auch B. Tollens erhielt anfangs Werte, die auf Oxydation zu Ameisensäure hindeuten (B. 15, 1830 [1882]). Später erhielt er auch höhere Werte (B. 16, 921 [1883]).

<sup>20)</sup> Je nach dem Oxydationspotential werden wechselnde Mengen Oxydationsmittel verbraucht. Bei der Bestimmung nach Fehling wird auf 1 Mol. Traubenzucker 5.0 bis 5.29 Mol. CuO verbraucht. Beim Silberoxyd liegt der Faktor höher. B. Tollens (B. 16, 921 [1883]) stellte Werte von 12.2—12.9 Mol. Silbernitrat pro Mol. Traubenzucker fest (einige Werte noch höher).

<sup>21)</sup> Infolge des Alters des Präparates war es fraglich, ob es noch genügend rein war. Es ergab aber um 0.5—1% höhere Analysenwerte als eine Probe Traubenzucker (0.5 g), die durch Umkrystallisation aus 99-proz. Äthylalkohol, Nachwaschen mit absol. Alkohol und Benzol, Trocknen im Vakuum (0.2 mm Hg) erhalten worden war. Zur provisorischen Bestimmung des Erfahrungsfaktors wurde es als ausreichend rein angesehen.

Das würde 12.72—12.78 Mol. Silbernitrat pro Mol Traubenzucker entsprechen. Theoretisch hätte die Bestimmung mit Silberoxyd vor den Kupfermethoden den Vorteil, gegen Luft-Sauerstoff unempfindlich zu sein. Die Übereinstimmung der Bestimmungen ist aber noch mangelhaft (gelegentlich bis 1% beobachtet). Der Grund für die Abweichungen ist eine teilweise Reduktion von Jod (Titrationsbasis) und von Silbernitrat (in saurer Lösung nach Auflösung des Silberoxydes) durch Ameisensäure (Reaktionsprodukt). Es wird daher zweckmäßig das unverbrauchte Silberoxyd erst nach Zugabe von überschüssigem KJ durch  $H_2SO_4$  aufgelöst. Obige Reihe wurde so erhalten. KJ wird zurücktitriert. Benzaldehyd ergab nach Makro-methode I und II nur Werte von etwa 85% d. Th.

### Makro-methode III.

Zur Bestimmung langsamer reagierender Aldehyde (Propionaldehyd bis Benzaldehyd) wurde folgende Methode ausgearbeitet:

Im 250-ccm-Meßkolben werden 50 ccm Aldehyd-Lösung (einschl. Spülwasser) und 45—50 ccm 0.1-n.  $AgNO_3$ -Lösung unter Umschwenken mit 12 ccm 0.1-n. Barytlauge und 67 ccm 0.1-n. Natronlauge versetzt und 2 Min. geschüttelt. Dann schüttelt man 5 Min. im siedenden Wasserbade (wie bei I). Nach Zugabe von 10 ccm 1-n. Kalilauge wird 5 Min. im Wasserbade weitergeschüttelt. Hierauf Zugabe von 10 ccm 50-proz. Kalilauge und nochmals 5 Min. Schütteln (Wasserbad). Danach: Abkühlen; 15 ccm 50-proz.  $H_2SO_4$  zugeben; Einstellung der Temperatur auf 20°; auf 250 ccm auffüllen; durchmischen; filtrieren und 200 ccm zur Bestimmung abmessen. Titration mit 0.1-n. KJ und  $AgNO_3$ -Lösung wie bei Makro-methode I (doppelte Titrationsbasis).

Bei Verwendung von je 25.133 ccm einer Lösung von 1.0111 g reinstem Benzaldehyd (unter Stickstoff fraktioniert) in 250.0 ccm Wasser (20.0°) wurde gefunden:

Nr.	Verbrauch an 0.1-n. Silbernitrat-Lösung ccm	An Benzaldehyd in % der angewandten Menge gefunden
1	19.05	99.39
2	19.14	99.85
3	19.08	99.52

Die Genauigkeit dieser Methode (III) ist also geringer und beträgt nur 0.5—1% (größte Fehlerbreite).

### Mikro-methode I (Acetaldehyd-Bestimmung für 0.1—0.4 mg).

Um Acetaldehyd in Mengen unter 1 mg einigermaßen genau bestimmen zu können, wurde die Mikro-methode I unter Verwendung einer kolloidalen Silberoxyd-Lösung ausgearbeitet. Diese Lösung wird folgendermaßen bereitet (0.002-n.): Im Becherglas (800 ccm) befinden sich 5.0 ccm 0.1-n.  $AgNO_3$ -Lösung; 5 ccm 0.5-n. Aluminiumsulfat-Lösung und 90 ccm Wasser. Hierzu kommen 0.5 ccm einer verd. Wasserglas-Lösung. Letztere wird aus konz. Wasserglas-Lösung ( $d=1.380$ ) (Angaben über  $SiO_2$ -Gehalt siehe Mikro-methode II) durch Verdünnen 1:50 hergestellt. Den Inhalt des Becherglases versetzt man durch lebhaftes Schwenken in schnelle Rotation und gibt in einem Schwunge aus kleinem Becherglas 100 ccm 0.06-n. Natronlauge dazu. Nach Überführung in 250-ccm-Meßkolben wird auf 250 ccm auf-

gefüllt. Die gelbbraune, klare Flüssigkeit (verträgt kurzes Sieden) wird auf 0.01-n. KJ-Lösung (nach Zugabe von  $H_2SO_4$ ) eingestellt.

Gang der Bestimmung: Im 25-ccm-Meßkolben werden 0.04—0.4 mg Acetaldehyd in 2 ccm Wasser (Pipette) und 10 ccm der Silberoxyd-Lösung rasch mit 1 ccm 0.1-n. Natronlauge gemischt und 2 Min. in siedendem Wasser (200-ccm-Becherglas, Kolben in Stativklammer gespannt) erhitzt. Auf den Kolben wird wie bei Makro-methode I ein kleiner verengter Trichter aufgesetzt. Durch den Trichter werden dann 0.5 ccm  $H_2O$  gegeben. Nach Absetzen des Trichters, Zugabe von 5 ccm 1-n. Kalilauge unter kurzem Schwenken und 5 Min. Erhitzen fortsetzen. Dann Zugabe einer kalten Mischung von 1 ccm 25-proz. KOH-Lösung und 2 ccm 50-proz. Schwefelsäure. Nach nochmaligem Erhitzen von 5 Min. Dauer wird auf 20° abgekühlt, auf 25 ccm aufgefüllt und 2-mal filtriert durch das gleiche Faltenfilter (4.5 cm Durchmesser, Nr. 590 von Schleicher & Schüll). 20 ccm des Filtrates (Pipette) werden wie oben (Titrationsbasis: 10 ccm  $H_2O$ , 1 ccm 1-proz. Stärkelösung, 1 ccm 0.002-n.  $KJ_3$  wie üblich entfärbt) mit 0.01-n. KJ- und  $AgNO_3$ -Lösung aus Mikro-büretten (Bang) titriert. Nullwert muß berücksichtigt werden.

Wir fanden bei einem Nullwert von 0.23 ccm 0.01-n.  $AgNO_3$ -Lösung (0.2333, 0.2339 und 0.2126) bei einer Reihe von 3 Bestimmungen mit je 0.27128 mg Acetaldehyd folgende Werte:

Nr.	Verbrauch an	Gefunden Acetaldehyd in % der Theorie
	0.01-n. Silbernitrat-Lösung ccm	
1	1.2468	100.8
2	1.2424	101.5
3	1.2539	102.4

Bei einer weiteren Reihe mit einem mittleren Nullwert von 0.282 ccm 0.01-n.  $AgNO_3$ -Lösung (0.2845, 0.2711 und 0.2911) wurde bei einem Angebot von 0.13564 mg Acetaldehyd gefunden:

Nr.	Verbrauch an	Gefunden Acetaldehyd in % der Theorie
	0.01-n. Silbernitrat-Lösung ccm	
1	0.6134	99.04
2	0.6162	99.49
3	0.6175	99.70

Bei einem Angebot von 0.027 mg Acetaldehyd wurde die Übereinstimmung schlecht (113.0 %, 78.6 % und 62.4 %).

Mikro-methode II (Acetaldehyd-Bestimmung für 0.001—0.08 mg).

Zur Erzielung guter Resultate sind folgende Vorschriften genau einzuhalten:

I. Kieselsäure dient als Schutzkolloid. Ausgangsmaterial ist eine Wasserglas-Lösung der Dichte  $d_4^{20} = 1.380$ , die in 100 ccm 43.04 g  $H_2SiO_3$  enthält und in 1 ccm (direkte Titration mit 0.1-n. HCl und Methylorange) eine Gesamtalkalität von 37.0 ccm 0.1-n. besitzt<sup>22)</sup>. Freie Alkalität nach Zusatz von  $BaCl_2 = 4.4$  ccm 0.1-n.

<sup>22)</sup> Eine solche Wasserglas-Lösung ist handelsüblich. Bei Bedarf stellt man sie aus (nicht geglähter) luft-trockner Kieselsäure ( $H_2SiO_3$ ) her (Ausfällen der Kieselsäure aus Wasserglas-Lösung mit HCl; Eindampfen auf Wasserbad; Auskochen mit verd. Salzsäure und weiter mit Wasser bis zur Chlor-Freiheit; Trocknen auf Wasserbad). 43 g dieses Kieselsäure-Hydrates werden im Verhältnis 2 Mol. NaOH : 7 Mol.  $H_2SiO_3$  in starker Natronlauge gelöst und auf 100 ccm verdünnt.

II. Aus Lösung I wird durch Verdünnen mit reinem Wasser eine verd. Lösung (2.0 ccm auf 100 ccm) frisch hergestellt.

III. 50 ccm der Lösung II und 160 ccm 0.02-n. Salpetersäure (genau eingestellt) werden in 300 ccm Erlenmeyer-Kolben auf 25 ccm eingedampft (Wägung auf Briefwaage). Nach Überführung in 50-ccm-Meßkolben wird bei 20° auf 50 ccm aufgefüllt und gemischt. Lösung III ist etwa einen Tag haltbar.

IV. Genau 0.5 ccm Lösung III werden mit 19.5 ccm Wasser und 5.0 ccm 0.1-n. Silbernitrat-Lösung schnell gemischt. Lösung IV ist etwa 1 Stde. ohne wesentlichen Abfall an Wirksamkeit haltbar. Nach 6 Stdn. deutliche Abnahme.

V. 1.00 ccm (Pipette) Acetaldehyd-Lösung (0.001—0.08 mg Aldehyd) und 1.0 ccm der Lösung IV werden in einem Reagensglase (am besten 18 mm × 130 mm) mit 1 ccm 0.04-n. Natronlauge durch besondere Einblasvorrichtung schlagartig gemischt<sup>23</sup>). Nach schnellem Umschwenken wird das Rohr sofort ins Dunkle gestellt (Blechtopf mit passendem Deckel). Je nach Güte (Alter) der Lösung IV ist die Reaktion nach 5—15 Min. praktisch beendet (20°). Die Farbe des Rohres wird tief kastanienbraun. Zur colorimetrischen Auswertung (zwecks Auflösung des Silberoxydes und Stabilisierung der kolloidalen Silber-Lösung) wird mit 1 ccm 0.06-n. Essigsäure mit 0.2% Gelatine-Gehalt rasch versetzt. Die Farbe geht dabei in ein helleres Gelbbraun über. Nullwerte sollen wasserklar sein. Colorimetriert wird gegen Vergleichsprobe (gut haltbar) durch Verdünnen. Nach Bedarf schließt sich die Titration mit 0.002-n. Jodlösung an. Bevor titriert werden kann, muß 1 ccm 0.5-proz. Kaliumjodid-Lösung mit 0.15% Stärke rasch zugesetzt werden. Es wird bis zur reinen Blaufärbung mit 0.002-n. Jodlösung<sup>24</sup>) übertitriert (Mikro-bürette Bang) und mit 0.002-n. Natriumthiosulfat-Lösung gegen Vergleichsprobe (Nullwert) zurücktitriert. 1.0 ccm 0.002-n. Jodlösung entsprechen theoretisch 0.044 mg Acetaldehyd. Bei Berücksichtigung des Nullwertes werden nur etwa 97—98% d. Th. gefunden. Mit 3 verschiedenen, fast analog hergestellten Schutzkolloid-Lösungen wurde bei Anwendung von je 0.06287 mg Acetaldehyd bei einem Nullwert von 0.02 ccm 0.002-n. Jodlösung gefunden:

<sup>23</sup>) Ein dünner Gummischlauch (2.5 mm lichte Weite) von etwa 50 cm Länge wird um 2 Finger in etwa 4 Windungen aufgespult und die entstandene Schlauchspule wird mit Aluminiumdraht so umwickelt, daß sie ihre Form nach Abnehmen von den Fingern behält. Anfang und Ende des Schlauches liegen parallel nebeneinander und werden mit je einer Schlauchklemme abgeschlossen. Der Anfang des Schlauches wird auf die Pipette aufgezogen, und das Ende des Schlauches wird mittels eines anderen Schlauchstückes mit einem Gummiball (Ohrenspritze) verbunden. Die Gummispritze ist mit einem Loch versehen, so daß man mit ihr nach Belieben Überdruck oder Unterdruck erzeugen kann. Man saugt bei Öffnung beider (parallel liegenden) Klemmen Natronlauge (0.04-n.) bis etwas über die Marke, schließt beide Klemmen und stellt durch Druck auf das kurze Stück Gummischlauch über der Pipette auf die Marke ein. Dann wird die Klemme auf der Seite des Gummiballes geöffnet und Überdruck in die Schlauchspule gebracht (Klemme sofort wieder geschlossen). Durch schnelles Öffnen der Klemme auf der Pipettenseite wird die Lauge schlagartig aus der Pipette herausgespritzt. Die beiden Klemmen bedient man mit der rechten Hand, den Gummiball mit der linken.

<sup>24</sup>) Da verd. Jodlösung (KJ<sub>3</sub>) rasch an Titer verliert, muß die 0.002-n. Jodlösung durch Verdünnen von 0.1-n. Jodlösung mit 0.1-n. Kaliumjodid-Lösung (nicht mit Wasser) hergestellt werden. Mit Wasser hergestellte 0.002-n. Jodlösung nimmt in 10 Min. um 7% und in 12 Stdn. um 17% ab.

Bez. d. Lösung An 0.002-n. Jodlösung wurde verbraucht nach einer Reaktionszeit  
IV von:

	5 Min.	10 Min.	15 Min.	45 Min.
A frisch . . . . .	1.405 (96.93%)	1.42 (97.98%)	—	—
A 180 Min. alt.	1.385 (95.53%)	—	—	1.42 (97.98%)
B frisch . . . . .	1.375 (94.83%)	1.41 (97.28%)	—	—
C frisch . . . . .	1.365 (94.13%)	1.41 (97.28%)	—	—

Lösung A entspricht der obigen Vorschrift.

Bei sehr kleinen Aldehyd-Mengen muß man längere Zeit reagieren lassen, um brauchbare Werte zu erhalten. Bei 60 Min. Reaktionszeit kann man bis zu 0.001 mg Acetaldehyd titrimetrisch bestimmen. Eine solche Reihe ergab<sup>25)</sup>:

Nr.	an Acetaldehyd angewandt	an 0.001-n. Jodstärke-Lösung wurde verbraucht für			Gefunden in % der Theorie
		Nullwert	Gesamt- bestimmung	Aldehyd	
1	0.00253	0.042	0.1377	0.0957	85.44
2	0.00253	0.043	0.1412	0.0982	87.68
3	0.00126	0.038	0.072	0.034	60.71
4	0.00126	0.042	0.077	0.035	62.14

Bei den kleinsten Mengen muß man also mit Erfahrungsfaktoren arbeiten. Colorimetrisch ist 0.0005 mg Acetaldehyd in 1 ccm noch nachweisbar.

In analoger Weise kann mit dieser Methode auch Traubenzucker (Blutzucker) bestimmt werden<sup>26)</sup>. Der Erfahrungsfaktor für Glucose liegt bei der Mikro-methode II niedriger als bei den Makro-methoden I und II. Nach meinen bisherigen Feststellungen entsprechen bei 10—15 Min. Reaktionszeit 1 ccm 0.002-n. Jodlösung 0.034 mg Traubenzucker. Bei einer Bestimmungsreihe mit je 0.041 mg Traubenzucker wurde gefunden:

An 0.002-n. Jodlösung wurde nach Abzug des Nullwertes verbraucht nach einer Reaktionszeit von

6 Min. 1.17 ccm (97.03%), 10 Min. 1.15 ccm (99.10%), 12 Min. 1.212 ccm (100.50%)  
15 Min. 1.215 ccm (100.75%).

Über eine auf diesem Prinzip aufgebaute schnelle Blutzucker-Bestimmung in sehr kleinen Blutmengen (0.02 ccm) beabsichtige ich an anderer Stelle zu berichten.

<sup>25)</sup> Bei dieser Reihe wurde mit 0.001-n. Jod-Stärke-Lösung (größere Farbintensität) gearbeitet. Hergestellt aus 50 ccm 0.002-n. Jodlösung (Anm. 24), 30 ccm 1-proz. Stärkelösung und 20 ccm H<sub>2</sub>O (auf 100 ccm aufgefüllt).

<sup>26)</sup> Nach vorläufigen Versuchen eignen sich die alkalischen kolloidalen Silberoxyd-Lösungen auch zur schnellen Kohlenoxyd-Bestimmung (vergl. Manchot und Mitarbeiter B. 60, 326 [1927], 64, 1261 [1931]).