

### 189. Theodor Ploetz und Hilde Bartels: Die quantitative Bestimmung von Lävulinsäure.

[Aus d. Institut für d. Chemie d. Holzes u. d. Polysaccharide, Chem. Institut d. Universität Heidelberg.]

(Eingegangen am 19. Juli 1941.)

Die Zersetzung von Hexosen unter dem Einfluß von Mineralsäuren bei erhöhter Temperatur führt über das unbeständige Oxymethylfurfurol zur Bildung von Lävulinsäure und Ameisensäure. Daneben treten wechselnde Mengen Huminsubstanzen auf. Aus der Literatur<sup>1)</sup> geht hervor, daß außer den genannten bei dieser Reaktion keine wasserlöslichen Säuren entstehen.

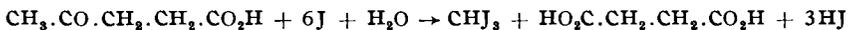
Überall da, wo Zucker mit heißen Mineralsäuren in Berührung kommen, ist daher mit der Bildung von Lävulinsäure zu rechnen. Da die Menge der entstandenen Lävulinsäure ein Maß für den Umfang der Zuckerzersetzung geben kann, sind schon häufig Versuche unternommen worden, ein quantitatives Bestimmungsverfahren für Lävulinsäure zu finden. Ein brauchbares Ergebnis wurde aber noch nicht erzielt.

M. Conrad und M. Guthzeit<sup>1)</sup> schlugen den einfachen Weg ein, daß sie die Summe der nicht flüchtigen Säuren in den Zersetzungslösungen titrierten und davon die eingesetzte Mineralsäure abzogen. Die Differenz wurde als Lävulinsäure angesprochen. In der Praxis ist jedoch die Menge der eingesetzten Mineralsäure meist nicht genau genug bekannt, um ein solches Differenzverfahren zu gestatten.

L. Grünhut<sup>2)</sup> oxydiert die mit Äther extrahierte Lävulinsäure mit Chromsäure zu Essigsäure und bestimmt diese oder den Chromsäureverbrauch. Abgesehen von der Langwierigkeit einer Ätherextraktion hat dieses Verfahren noch den Nachteil einer weitgehenden Unspezifität.

Die quantitative Auswertung verschiedener vorgeschlagener Farbreaktionen scheidet an der Eigenfärbung der Zersetzungslösungen.

Den Versuch einer jodometrischen Titration der Lävulinsäure hat Savarè<sup>3)</sup> unternommen. Durch die Gruppierung  $\text{CH}_3\text{CO}$  ist die Lävulinsäure der Jodoformreaktion zugänglich. Die Gleichung



ergibt, daß je Lävulinsäuremolekel 6 Jodatome verbraucht werden. Durch Rücktitrieren des Jodüberschusses ließ sich die Lävulinsäuremenge bestimmen. Savarè fand jedoch eine starke Abhängigkeit des Jodverbrauchs von der zugesetzten Alkalimenge. Ein weiterer Ausbau des Verfahrens unterblieb daher.

Wir haben nun dieses jodometrische Verfahren wieder aufgegriffen und die Bedingungen ermittelt, die zu richtigen und reproduzierbaren Werten führen. Es ergab sich dabei, daß die von Savarè beobachteten Schwankungen im Jodverbrauch daher rühren, daß in Abhängigkeit von den Reaktionsbedingungen zwei Reaktionen miteinander konkurrieren. Neben der oben formulierten läuft noch eine zweite, bei der von jeder Lävulinsäuremolekel 8 Atome Jod verbraucht werden. Unter den Bedingungen, die im Versuchsteil angegeben sind, verläuft diese Reaktion zu 100%, die normale, mit einem Verbrauch von 6 Jod, ist dagegen ganz ausgeschaltet.

<sup>1)</sup> C. Wehmer u. B. Tollens, A. **243**, 314 [1888]; M. Conrad u. M. Guthzeit, B. **18**, 439 [1885].

<sup>2)</sup> Ztschr. Unters. Nahrungs- u. Genußm. **41**, 261 [1921].

<sup>3)</sup> Gazz. chim. Ital. **36** II, 344 [1905].

Das Verfahren wurde als Mikroverfahren für Einwaagen von 1—20 mg entwickelt. Auch die Bestimmung von Lävulinsäure neben unzersetztem Zucker wurde an Hand eines Differenzverfahrens ausgearbeitet.

Wir haben uns in verschiedenen Ansätzen vergeblich bemüht, den Verlauf der 8-Jod-Reaktion durch Isolierung der Reaktionsprodukte aufzuklären. Die Aufarbeitung führte stets zu Bernsteinsäure neben tiefbraun gefärbten Flüssigkeiten, die der weiteren Bearbeitung trotzen. Die Isolierung der Bernsteinsäure dürfte daher rühren, daß es nicht gelingt, die 8-Jod-Reaktion in den präparativen Maßstab zu übertragen. Die dabei notwendige Änderung der Konzentrationsverhältnisse bewirkt vielmehr, daß die 6-Jod-Reaktion wieder mehr oder weniger stark in Erscheinung tritt.

### Beschreibung der Versuche.

Da eine genaue Einwaage der sehr hygroskopischen Lävulinsäure sehr schwierig ist, gingen wir von analysenreinem Silber Salz aus. Die Zerlegung des Salzes erfolgte mit verd. Salzsäure. Am besten bewährte sich dabei das Arbeiten bei Zimmertemperatur: Das abgewogene Silber Salz wurde in Wasser suspendiert, mit einem geringen Überschuß verd. Salzsäure versetzt und dann mehrere Stunden auf einer Schüttelmaschine heftig geschüttelt. Das Chlorsilber verteilt sich dabei ziemlich feinkörnig. Dann wird filtriert, ausgewaschen und auf ein genaues Volumen aufgefüllt.

Als wir mit diesen Lösungen in Anlehnung an die Versuche von Savarè die Lävulinsäure-Bestimmungen durchführten, erhielten wir, unter Zugrundelegung eines Verbrauchs von 6 Atomen Jod, viel zu hohe Werte. In Abhängigkeit von den Versuchsbedingungen ergaben sich Werte bis zu 127% der Einwaage. Durch systematische Untersuchung des Einflusses, den die Veränderung der einzelnen Reaktionspartner auf das Titrationsergebnis ausübt, gelangten wir schließlich zu Bedingungen, die mit großer Konstanz einen Wert von 127% lieferten.

Aceton, das wir als Testsubstanz verwendeten, lieferte unter den gleichen Bedingungen einen Titrationswert von 100%.

Da die Möglichkeit bestand, daß die Zerlegung des Silber Salzes unter unseren Bedingungen nicht ganz quantitativ verläuft, d. h., daß das entstehende Chlorsilber noch Spuren unzersetzten lävulinsäuren Silbers einschloß, zogen wir auch analysenreine Ester der Lävulinsäure für die Titration heran. Sowohl der Methyl- als auch der Äthylester ergaben nun konstante und übereinstimmende Werte von 133%. Daraus geht hervor, daß nicht die bekannte Gleichung, nach welcher 1 Lävulinsäure 6 Jod verbraucht, der Reaktion zugrunde liegt, sondern eine solche, bei der 8 Atome Jod je Molekül Lävulinsäure verbraucht werden. Berechnet man die erhaltenen Titrationswerte an Hand der 8-Jod-Gleichung, so schwanken die Ergebnisse innerhalb einer sehr engen Fehlergrenze um 100%.

Die Ausführung der Bestimmung gestaltet sich wie folgt: In einem mit Schliffstopfen versehenen Erlenmeyer-Kolben gibt man zu 1—5 ccm der zu untersuchenden Lösung (enthaltend 1—20 mg Lävulinsäure) 10—20 ccm  $n_{10}$ -Jodlösung. Unter Schütteln läßt man dazu 1-n. Kalilauge tropfen, und zwar das der Jodlösung gleiche Volumen. Die Lösung bleibt mindestens 10 Min. bei Zimmertemperatur stehen. Es bildet sich eine gelbe Trübung von Jodoform, deren Flockung man durch gelegentliches Schütteln erleichtert. Das Jodoform wird dann durch einen Gooch-Tiegel filtriert und alkalifrei gewaschen. Das Filtrat wird mit der der zugegebenen Kalilaugemenge entsprechenden Menge 1-n. Salzsäure angesäuert und das über-

schüssige Jod mit  $n/_{10}$ -Thiosulfat zurücktitriert. Die vorgelegte Jodmenge wird so bemessen, daß nicht mehr als höchstens  $\frac{2}{3}$  derselben bei der Reaktion verbraucht werden.

Einige Titrationsergebnisse sind in folgender Tafel zusammengestellt:

Substanz	Einwaage mg	$n/_{10}$ -Jod ccm	1-n. KOH 1-n. HCl ccm	$n/_{10}$ -Thio- sulfat rücktitr. ccm	Jod- verbrauch ccm	Substanz gef. ccm	Fehler %
Lävulinsäure	3.62	10	10	7.61	2.39	3.47	—4.1
aus Silbersalz	7.24	10	10	5.22	4.78	6.94	—4.1
Lävulinsäure- methylester	5.18	10	10	6.82	3.18	5.17	—0.2
	10.37	10	10	3.62	6.38	10.37	0.0
Lävulinsäure- äthylester	1.17	10	10	9.37	0.63	1.13	—3.4
	2.34	10	10	8.71	1.29	2.32	—0.8
	3.51	10	10	8.09	1.91	3.44	—2.0
	7.77	10	10	5.70	4.30	7.74	—0.4
	15.54	20	20	11.40	8.60	15.48	—0.4

Die Einflüsse bestimmter Faktoren auf den Reaktionsverlauf ergaben sich folgendermaßen:

1) Die Reaktion kann bei Temperaturen von 1—30° durchgeführt werden, ohne daß dadurch das Ergebnis beeinflußt wird.

2) Die Einwirkungszeit des Alkalis soll nicht unter 10 Min. betragen. Bei 5 Min. erhielten wir schwankende Werte. Längere Zeiten (bis 2 $\frac{1}{2}$  Stdn. geprüft) sind ohne Einfluß.

3) Es ist zweckmäßig, das gebildete Jodoform vor der Titration zu entfernen. Bei kleinen Jodoformmengen ergab sich zwar kein Einfluß auf das Ergebnis, wenn in Gegenwart des Jodoforms titriert wurde. Größere Jodoformmengen führten jedoch unter diesen Umständen zu etwas zu niedrigen Werten.

4) Die zugegebene Jodmenge soll so bemessen sein, daß mindestens  $\frac{1}{3}$  derselben unverbraucht bleibt. Zu geringer Jodüberschuß liefert zu niedrige Werte, großer Jodüberschuß ist ohne Einfluß auf das Ergebnis.

5) Die Menge der zugegebenen 1-n. Kalilauge beeinflusst das Ergebnis insofern, als erst bei großem Alkaliüberschuß konstante und richtige Werte erhalten werden. Bei 1 ccm Substanz und 10 ccm  $n/_{10}$ -Jodlösung beträgt die erforderliche Mindestmenge Kalilauge 3 ccm.

6) Die vorgelegte Lävulinsäuremenge wurde bei unseren Versuchen zwischen 1 und 20 mg variiert. Bei Einwaagen von wenigen Milligramm fällt der Titrationsfehler schon wesentlich ins Gewicht. Durch Verwendung von verdünnteren Normallösungen (z. B.  $n/_{20}$ -Jod und -Thiosulfat) können hier genauere Ergebnisse erzielt werden.

Die jodometrische Bestimmung der Lävulinsäure wird gestört von allen Stoffen, die unter den genannten Bedingungen Jodoform bilden oder sonst Jod verbrauchen, also z. B. Aceton, Acetessigester, Milchsäure, Furfurol, Oxymethylfurfurol u. a. Die bei der sauren Zuckerzersetzung neben Lävulinsäure entstehende Ameisensäure stört nicht.

In den sauren Zuckerzersetzungslösungen liegen neben der Lävulinsäure meist noch unveränderte Zuckeranteile vor. Diese stören die Bestimmung,

da sie unter den genannten Bedingungen, die denen der Mikro-Willstätter-Schudel-Bestimmung<sup>4)</sup> ähneln, zu Zuckersäuren oxydiert werden. Die Bestimmung des unveränderten Zuckers neben der Lävulinsäure läßt sich nun mit befriedigender Genauigkeit mit folgendem Differenzverfahren durchführen:

a) Man bestimmt den vorhandenen reduzierenden Zucker nach Fehling-Bertrand. Lävulinsäure stört dabei nicht.

b) Die wie oben durchgeführte Lävulinsäure-Bestimmung ergibt sodann einen Jodverbrauch, der auf die Reaktion von Lävulinsäure + Zucker zurückzuführen ist.

c) Unter der Voraussetzung, daß jede Hexosenmolekel 2 Jod verbraucht, läßt sich aus dem Ergebnis der Bertrand-Bestimmung der zu erwartende Jodverbrauch des Zuckers bei der Lävulinsäure-Bestimmung berechnen. Bringt man diesen vom gefundenen Jodverbrauch in Abzug, so verbleibt der auf die Lävulinsäure treffende Jodverbrauch.

Wir haben diesen Weg an verschiedenen Mischungen von Lävulinsäure-äthylester und Glucose geprüft. Bei den Verhältnissen Lävulinsäureäthylester:Glucose = 1:1 bis 1:10 liefert sie brauchbare Ergebnisse. Bei einem Verhältnis von 1 Lävulinsäureäthylester:100 Glucosen wirkt sich jedoch ein geringer Fehler bei der Bertrand-Bestimmung so stark aus, daß die Lävulinsäurewerte unbrauchbar werden.

Zusammensetzg. der Mischung Glucose + Lävulinsäure- äthylester	Bertrand-Bestimmung				Jodometr. Bestimmung					
	Vorlage	$n/10$ - KMnO <sub>4</sub> Verbr.	Glucose gef.	Fehler	Vorlage	$n/10$ - Jod Verbr.	Ber. Jod- verbr. d. Gef. Glucose	Jod- verbr. d. Lävulin- säure- äthyl- esters	Gef. Lävulin- säure- äthyl- ester	Fehler
	ccm	ccm	mg	%	ccm	ccm	ccm	ccm	mg	%
5.00 mg + 5.49 mg/ccm	5	7.75	25.0	0.0	1	3.70	0.56	3.14	5.65	+2.97
8.34 mg + 1.83 mg/ccm	5	12.70	41.0	-1.68	2	3.90	1.82	2.08	3.74	+2.19
9.09 mg + 1.00 mg/ccm	5	13.75	45.5	-0.11	5	7.80	5.06	2.74	4.93	-1.40

Wird die Lävulinsäure-Bestimmung in Gegenwart von Zuckern durchgeführt, so ist zu beachten, daß diese bei großem Alkaliüberschuß mehr als 2 Atome Jod verbrauchen. Während also bei der Titration von Lävulinsäure allein unbedenklich ein großer Alkaliüberschuß angewendet werden darf, gilt dies in diesem Falle nicht. Wie die letzte Tafel zeigt, läßt sich aber hier ein richtiger Mittelweg finden. Man verwendet bei Gegenwart von Zucker bei Zugabe von 10 ccm  $n/10$ -Jodlösung nur 3 ccm 1-n. Kalilauge. Wie unter 5) ausgeführt wurde, liefert diese Menge gerade richtige Lävulinsäurewerte. In besonderen Ansätzen haben wir uns davon überzeugt, daß die Glucose unter diesen Bedingungen richtige Werte liefert.

<sup>4)</sup> K. Freudenberg u. Th. Ploetz, Ztschr. physiol. Chem. 259, 21 [1939].