

Zeitschrift
für
Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel,
sowie der Gebrauchsgegenstände.

Heft 7.

1. Oktober 1908.

16. Band.

Zum Nachweis der Ameisensäure im Bienenhonig.

Von

Dr. Th. Merl.

Mitteilung aus dem Laboratorium der Kgl. Untersuchungsanstalt zu
München.

Bekanntlich hat man die Tatsache, daß zufällig in gewissen Früchten Salicylverbindungen — wenn auch nur in Spuren — schon von Natur aus enthalten sind, dazu benutzt, um daraus eine gewisse Berechtigung für die Verwendung der Salicylsäure als Konservierungsmittel abzuleiten. Für die Ameisensäure, welche bei den „Erhaltungsverfahren“ neuerdings mehr und mehr eine Rolle zu spielen scheint, werden ganz analoge Schlüsse gezogen. Hier sucht man die erhobenen Einwände zu entkräften mit dem Hinweise darauf, daß ja auch der reine, unverfälschte Bienenhonig diese Säure — und zwar bis zu 0,21 % — enthalte, also Mengen, denen bereits eine konservierende Wirkung zukäme.

Bezüglich der im Honig natürlich vorkommenden Mengen an Ameisensäure erscheint es nötig, obiger Zahlenangabe das kritische Interesse zuzuwenden, da diese wohl kaum durch einwandfreie Beobachtungen gestützt wird.

K. Farnsteiner¹⁾ weist in einer unlängst erschienenen Arbeit „Der Ameisensäuregehalt des Honigs“ darauf hin, daß bis jetzt zuverlässige Untersuchungen über diesen Gegenstand fehlen und die Möglichkeit nicht ausgeschlossen sei, daß man bisher ein Säuregemisch von zunächst noch unbekannter Zusammensetzung fälschlicherweise als Ameisensäure angesehen bzw. bestimmt habe.

Auf Anregung des Herrn Prof. Dr. Sendtner hin habe ich mich mit der gleichen Frage bereits vor geraumer Zeit und zwar vor der Veröffentlichung Farnsteiner's beschäftigt. Mit Rücksicht auf letztere will ich über meine bisherigen Beobachtungen kurz berichten.

Vor allem war es mir darum zu tun, die Brauchbarkeit der Verfahren zur Bestimmung der Ameisensäure für den vorliegenden Fall zu prüfen. Für einen einwandfreien Nachweis der Ameisensäure genügt es hier, was auch Farnsteiner betont, nicht, lediglich aus dem Vorhandensein einer mit Wasserdampf flüchtigen und auf gewisse Metallsalzlösungen reduzierend wirkenden, sauren Substanz auf Ameisensäure zu schließen. Reduktionserscheinung allein als ausschlaggebende Reaktion kann zu Täuschungen führen; so heißt es z. B. in dem „Lehrbuch der Intoxikationen“ von R. Kobert (1893, S. 223): „Der Harn zeigt (nach Einverleibung von Ameisensäure — der Verf.) infolge seines Gehaltes an ameisen-sauren Salzen Reduktionsfähigkeit

¹⁾ Diese Zeitschrift 1908, 15, 598.

für Fehling'sche Lösung . . .“ In Wirklichkeit wird aber Fehling'sche Kupferlösung von Formiaten überhaupt nicht reduziert.

Zu dem üblichen Verfahren, welches bei der Ameisensäurebestimmung befolgt wird, sei folgendes bemerkt:

I. Isolierung der Säure aus dem Honig.

Um die Säure von den übrigen Honigbestandteilen zu trennen, wird gewöhnlich die Wasserdampfdestillation benutzt. Das saure Destillat wird neutralisiert und durch Eindampfen konzentriert.

Bei der Neutralisation wird als Indikator anstatt Phenolphthalein zweckmäßig ein im Destillat schwimmendes Stückchen Azolithminpapier benutzt, falls weiterhin die Reduktionsmethode mittels Quecksilberchloridlösung Anwendung finden soll. Phenolphthalein kann nämlich beim Erwärmen mit Quecksilberchloridlösung unlösliche Abscheidungen liefern, welche dann unter Umständen zusammen mit dem ausgeschiedenen Quecksilberchlorür auf's Filter und zur Wägung gelangen, also Fehler bedingen würden.

Ferner habe ich, in gleicher Weise wie Farnsteiner, die Beobachtung gemacht, daß aus einer mit Phosphorsäure angesäuerten Honiglösung größere Mengen reduzierender Säuren abgeblasen werden als aus der nicht angesäuerten Lösung. Ob diese Erscheinung etwa durch in der Phosphorsäure enthaltene flüchtige Säuren bedingt wird oder auf die Einwirkung der Phosphorsäure auf die Kohlenhydrate zurückzuführen oder durch Salz- bzw. Esterspaltung zu erklären ist, wurde noch nicht festgestellt. Hierüber sollen weitere Versuche Aufschluß geben; desgleichen über die Frage, ob nicht vorteilhaft an Stelle der Wasserdampfdestillation die Flüchtigkeit der Ameisensäure mit Alkoholdämpfen zur Isolierung aus dem Honig benutzt werden kann. Letztere Arbeitsweise, bei welcher auch das sonst oft recht lästige Schäumen ganz vermieden wird, scheint Erfolg zu versprechen.

II. Bestimmung der isolierten Säure.

Was die Bestimmung der Ameisensäure in dem eingeeengten Destillat anlangt, so erschien es angezeigt, an Stelle der bisherigen Reduktionsverfahren einen anderen Weg einzuschlagen, der eindeutiger einen Schluß auf das Vorliegen von Ameisensäure zuläßt, d. h. unabhängig macht von der Reduktionseigenschaft, welche ja außer der Ameisensäure auch noch anderen flüchtigen organischen Säuren bzw. sauren Substanzen zukommen kann. Zu diesem Zwecke habe ich die seither bekannt gewordenen diesbezüglichen Bestimmungsmethoden einer vergleichenden Prüfung unterzogen. Es würde zu weit führen, wenn ich an dieser Stelle alle die Gründe anführen wollte, welche die einzelnen, teilweise an sich sehr exakten Verfahren, als für den vorliegenden Zweck unbrauchbar erscheinen ließen. Es möge genügen, darauf hinzuweisen, daß meist die im Destillat enthaltenen Begleitsubstanzen bei den Bestimmungen störend wirkten.

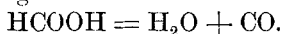
Die Möglichkeit, die Ameisensäure durch Salzbildung, z. B. mittels des Zinksalzes, rein zu gewinnen und so für die Analyse zu fassen, konnte wegen der in Betracht zu ziehenden, nur geringen Säuremengen ernstlich nicht in Frage kommen. Die Überführung von Natriumformiat in das entsprechende Oxalat durch Erhitzen mit 1% Alkali¹⁾ geht zwar glatt vor sich; bei 290° beginnt die Wasserstoffentwicklung,

¹⁾ Rudolf Koepf & Co.: D.R.P. No. 161 512.

die Masse wird fest und bei etwa 350° ist die Umwandlung vollendet. Bei den relativ kleinen Mengen aber, welche für diese Versuche benutzt werden mußten, war eine quantitative Umsetzung nicht zu erreichen.

Schließlich habe ich ein gasometrisches Verfahren mit bestem Erfolge angewandt, welches von M. Wegner¹⁾ beschrieben worden ist.

Dieses Verfahren beruht auf der bekannten Tatsache, daß Ameisensäure beim Erhitzen mit konzentrierter Schwefelsäure glatt in Wasser und Kohlenoxyd gespalten wird nach der Gleichung:

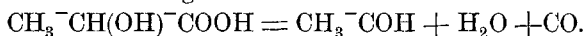


Aus der Menge des durch einen Kohlensäurestrom verdrängten und in einem mit Kalilauge beschickten Azotometer aufgefangenen Kohlenoxydes läßt sich die Menge der Ameisensäure berechnen: 1 ccm (0° + 760 mm) = 1,251 mg Kohlenoxyd entspricht 2,055 mg Ameisensäure,

Man sieht, daß geringe Ameisensäuremengen ein verhältnismäßig großes Volumen Gas liefern, ein wesentliches Moment für die Genauigkeit des Verfahrens. Zahlreiche Versuche ergaben, daß es rasch ausführbar ist und gute Ergebnisse liefert.

Bezüglich der Einzelheiten des Verfahrens kann ich auf die Originalarbeit verweisen; es sei hier nur kurz angeführt, daß ich den von Wegner angegebenen Apparat durch einige zweckmäßig erscheinende, das Prinzip jedoch nicht berührende Abänderungen zu vereinfachen bemüht war. Die Bestimmungen wurden sämtlich mit den völlig eingedampften, überschüssiges Alkali enthaltenden Wasserdampfdestillaten ausgeführt. Das Auftreten von schwefliger Säure, welches öfters beobachtet wurde, wirkt nicht störend, da diese Säure von der Azotometerlauge absorbiert wird.

Was die Anwendbarkeit des genannten Verfahrens für unseren Zweck betrifft, so ist diese natürlich davon abhängig, daß andere, beim Erhitzen mit konzentrierter Schwefelsäure gleichfalls Kohlenoxyd liefernde Körper im Honigdestillate nicht enthalten sind. Über diesen letzten Punkt darf man meines Erachtens beruhigt sein. Von den in Betracht kommenden Säuren könnten unter Umständen nur die salpetrige Säure und die Milchsäure stören, welche letztere von konzentrierter Schwefelsäure zerlegt wird im Sinne der Gleichung:



Die aus den verschiedensten Honigen erhaltenen Destillate waren sämtlich frei von salpetriger Säure; desgleichen konnte in keinem Falle mittels des Uffelmann'schen Eisenchlorid-Carbolsäure-Reagens und des Berg'schen Eisenchlorid-Salzsäure-Reagens die Anwesenheit von Milchsäure festgestellt werden. Nebenbei bemerkt, muß hier die erstere Reaktion in der von H. Füh und G. Lockemann²⁾ angegebenen Abänderung ausgeführt werden, da auch Ameisensäure ähnlich reagiert.

Hier möchte ich einschalten, daß selbst unter der Annahme, daß milchsäurehaltiger Bienenhonig vorläge, ein Übergehen der Milchsäure in das Wasserdampfdestillat nicht erfolgen würde. Nach neueren Untersuchungen ist ja die Flüchtigkeit mit Wasserdampf nur bei vorhandenen größeren Milchsäuremengen zu beobachten³⁾.

Bei anderen Untersuchungsgegenständen, z. B. bei mit Ameisensäure versetzten

¹⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 1903, 42, 427—431.

²⁾ Zentralbl. f. Gynäkologie 1906, 41—43; Chem. Zentralbl. 1906, I, 1452.

³⁾ Vergl. G. Quincke: Studien über die Säuren und den Alkohol im Wein und ihre quantitative Bestimmung. — Inaugural-Dissertation. München 1907.

Konserven, die unter Umständen stark milchsäurehaltig sein können, wird man sich dadurch helfen müssen, daß man in der einen Hälfte des Destillates die Gesamtmenge des aus Ameisensäure + Milchsäure erhaltenen Kohlenoxydes bestimmt, in der anderen Hälfte die Milchsäure nach Ulzer und Seidel¹⁾ mittels 5%iger Kaliumpermanganatlösung und Ätzkali zu Oxalsäure oxydiert, als Calciumoxyd zur Wägung bringt, die aus der gefundenen Milchsäure sich berechnende Kohlenoxydmenge von der Gesamtkohlenoxydmenge abzieht und die Differenz als ursprünglich vorhandene Ameisensäure in Rechnung setzt.

Bei dieser Gelegenheit möchte ich auch über eine Verbindung berichten, welche ich gelegentlich der hier besprochenen Untersuchungen herstellte und in der mir zugängigen Literatur noch nicht beschrieben fand.

Wenn man 1 Teil Cumarin und 2 Teile Quecksilberchlorid in etwa 30 vol.-%igem Alkohol löst und nun nötigenfalls mit Eis kühlt, so fällt eine in prächtigen, nach Cumarin riechenden Nadelchen krystallisierende Doppelverbindung vom Schmelzpunkt 131° aus. Für die Formel $C_9H_6O_2 \cdot HgCl_2$ berechnet sich ein Gehalt an $HgCl_2$ von 64,98%; gefunden wurden durch Quecksilberbestimmung 65,05%.

Da in vorliegender Arbeit, welche noch keineswegs zum Abschluß gelangt ist, zunächst der bei der Ameisensäurebestimmung einzuschlagende Weg geprüft wurde, muß ich mich vorläufig auf Mitteilung einiger Analysen beschränken, welche die Brauchbarkeit des Wegner'schen gasanalytischen Verfahrens dartun sollen.

I. Bestimmung der Ameisensäure als Kohlenoxyd nach Wegner in einer wässerigen Ameisensäurelösung.

a) Eine wässrige, 0,0538 g $HCOOH$ enthaltende Lösung wurde mit überschüssigem Zinkoxyd zur Trockne gebracht und im Wegner'schen Apparat zersetzt. Ergebnis: 24,62 ccm Kohlenoxyd (0° u. 760 mm) = 0,0506 g Ameisensäure.

b) Der genau gleiche Versuch, nur unter Verwendung von überschüssiger Natronlauge als Neutralisationsmittel, ergab 26,21 ccm CO (0° u. 760 mm) = 0,0533 g Ameisensäure.

II. Vergleichende Bestimmungen nach der Reduktions- und Kohlenoxyd-methode.

a) Zweimal je 100 g eines selbstbereiteten, ungezuckerten Hagebuttenbreies wurden mit je 0,0207 g Ameisensäure (= 4,5 ccm $\frac{1}{10}$ N.-Lauge) versetzt und beide Bestimmungen unter den gleichen Vorbedingungen ausgeführt. Das Ergebnis war folgendes:

Reduktions-Verfahren.	Kohlenoxyd-Verfahren.
1000 ccm Wasserdampfdestillat = 12,2 ccm N.-Lauge (entspr. 0,561 g Ameisensäure) lieferten 0,2060 g Quecksilberchlorür = 0,0200 g Ameisensäure.	1000 ccm Wasserdampfdestillat = 12,53 ccm N.-Lauge (entspr. 0,5760 g Ameisensäure) lieferten: 9,81 ccm Kohlenoxyd (0°; 760 mm) = 0,02015 g Ameisensäure.

b) Zu den folgenden Versuchen wurden je 100 g eines mittels Alkohols konservierten, völlig klaren Himbeerrohsaftes verwendet, welcher voraussichtlich (von der Gärung herrührend) kleine Mengen Ameisensäure enthalten mußte. Das Ergebnis war folgendes:

Reduktions-Verfahren.	Kohlenoxyd-Verfahren.
1500 ccm Wasserdampfdestillat = 3,97 ccm N.-Lauge (entspr. 0,1826 g Ameisensäure) lieferten 0,1088 g Quecksilberchlorür = 0,01063 % Ameisensäure.	1500 ccm Wasserdampfdestillat = 4,0 ccm N.-Lauge (entspr. 0,1840 g Ameisensäure) lieferten 4,98 ccm Kohlenoxyd (0° und 760 mm) = 0,01003 % Ameisensäure.

¹⁾ Chem.-Ztg. 1897, 22, 204 und Lunge, Untersuchungsmethoden 3, 696.

III. Ein Bienenhonig, welcher in der Tagespresse als „sehr ameisensäurereich“ angepriesen wurde, lieferte nach beiden Verfahren folgende Ergebnisse.

Reduktions-Verfahren.

50 g Honig lieferten 1500 ccm Wasserdampfdestillat = 1,6 ccm N.-Lauge (entspr. 0,0736 g Ameisensäure) und 0,2844 g Hg_2Cl_2 = 0,02786 g oder 0,0557% Ameisensäure.

Kohlenoxyd-Verfahren.

50 g Honig lieferten 1500 ccm Wasserdampfdestillat = 1,8 ccm N.-Lauge (entspr. 0,0828 g Ameisensäure) und 6,34 ccm Kohlenoxyd (0°; 760 mm) = 0,01302 g oder 0,02604% Ameisensäure.

Die freie Gesamtsäure dieses Honigs erforderte zur Neutralisation 4,4 ccm N.-Lauge (entspr. 0,202% Ameisensäure).

In gleicher Weise soll nunmehr der Ameisensäuregehalt einer Anzahl von naturreinen Bienenhonigen festgestellt werden.

Hierüber werde ich später berichten.

Nachtrag.

Fernand Repiton empfiehlt in einer kürzlich erschienenen Arbeit¹⁾ die Verwendung von Fehling'scher Lösung zum Nachweis freier (organischer oder anorganischer) Säuren in organischen Flüssigkeiten. Nach seinen Angaben wird nämlich kochende Fehling'sche Lösung (5 ccm) durch 1 Tropfen einer $1/10$ N.-Lösung von Milchsäure, Ameisensäure, Essigsäure, Citronensäure, Schwefelsäure teilweise reduziert. Da genauere Mitteilungen über Stärke bzw. Verdünnungsgrad der hierzu benutzten Fehling'schen Lösung fehlen, so habe ich zunächst eine genauere, experimentelle Nachprüfung unterlassen. Daß die unverdünnte Lösung unter den angegebenen Verhältnissen nicht reduziert würde, mußte von vorneherein klar sein.

Nachdem nun in Vorstehendem davon die Rede war, daß Formiate auf alkalische Kupferlösungen keinerlei Reduktionswirkung ausüben, andererseits Repiton durch Zugabe von $1/10$ N.-Ameisensäure Fehling'sche Lösung teilweise reduzieren konnte, so halte ich es für angezeigt, hier darauf hinzuweisen, daß das Zustandekommen der letzteren Reaktion wahrscheinlich abhängig ist von einer, durch den Säurezusatz erfolgenden, fast völligen Neutralisation des freien Alkalis der entsprechend verdünnten Kupferlösung. Ob dies durch Ameisensäure oder irgend eine andere Säure (Essigsäure, Milchsäure, Schwefelsäure, Salzsäure etc.) geschieht, muß hierbei ganz gleich sein. Bei ungenügender Alkalität scheidet dann die Fehling'sche Lösung in der Kochhitze Kupferoxydul ab. Diese Reduktionserscheinung rührt aber nicht von den durch den Säurezusatz gebildeten Alkalisalzen her, sondern sie tritt bekanntlich ein infolge Mangels an freiem Alkali in der Lösung, ohne daß irgend ein reduzierend wirkender Körper zugegen zu sein braucht²⁾.

¹⁾ Annal. Chim. analyt. appl. **13**, 269—270.

²⁾ Vgl. auch M. Siegfried und M. Z. Jovitschitsch in Ber. Deutsch. Chem. Gesellsch. **1897**, **30**, 2431 u. 3133.