

der Lösung — die alkoholische Flüssigkeit verursacht Stoßen) verdient die Methode I den Vorzug. Die Methode II ist an sich nicht neu, sie wurde jedoch früher nur unter Verwendung von CuO als Katalysator durchgeführt.

Beim Vergleich der anfallenden Mercuribromid-Papierstreifen ergeben sich mitunter ungleichmäßige Farbtönungen, je nachdem sich die Reaktion auf die ganze Länge des Streifens oder nur auf einen Teil desselben erstreckt. Es ist daher unbedingt erforderlich, den GUTZEIT-Apparat stets in vollkommen gleicher Weise zu beschicken und insbesondere ein vollkommen einwandfrei gleichmäßig imprägniertes Mercuribromid-Papier zu verwenden.

#### Zusammenfassung.

Zur quantitativen Bestimmung des Arsens in mit arsenhaltigem Kampfstoff begittetem Fett läßt sich das Arsen durch Behandeln der Probe mit verd. Schwefelsäure und Perhydrol oder mit Alkohol extrahieren. Der umständliche und langwierige KJELDAHL-Aufschluß des Fettes selbst erübrigt sich damit.

## Zur Methodik der l-Ascorbinsäure-Titration mit 2,6-Dichlorphenolindophenol.

Von

Th. MARX.

Mitteilung aus der Abteilung für landwirtschaftliche Chemie der Biologischen Zentralanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem.

(Eingegangen am 4. August 1952.)

Bei der Prüfung verschiedener Reagentien auf ihre Fähigkeit, l-Ascorbinsäure zu stabilisieren, fanden wir, daß eine gesättigte Natriumchloridlösung den Zerfall der l-Ascorbinsäure am besten hemmte<sup>1</sup>. Auf Grund dieser Tatsache haben wir an einigen wenigen Beispielen gezeigt, daß die übliche „Sandverreibung“ des frischen Pflanzenmaterials durch eine Verreibung mit kristallisiertem Natriumchlorid („zur Analyse“ der Firma E. Merck, Darmstadt) ersetzt werden kann. Wir ergänzen nunmehr diese Mitteilung durch Vorlage eines umfangreichen Untersuchungsmaterials (bearbeitet mit INGRID ENDE-FRESE).

Durch die Verreibung mit Natriumchlorid werden die Pflanzenzellen plasmolytisch, so daß die Inhaltstoffe leichter und in höherem Maß quantitativ aus den Zellen austreten können. Dadurch besteht die Möglichkeit, Massenuntersuchungen in kurzer Zeit auszuführen.

Das Natriumchlorid löst sich beim Überspülen des Pflanzenbreies mit bidestilliertem Wasser in ein Becherglas fast ganz auf. In der Suspension kann daher bei ungefärbtem, frischem Pflanzenmaterial — die suspendierten zerriebenen Pflanzenpartikelchen stören nicht — und bei einiger Übung die l-Ascorbinsäure, ohne zu zentrifugieren oder zu filtrieren, mit genügender Genauigkeit direkt titriert werden. Bei gefärbtem Pflanzenmaterial muß jedoch wie bisher zentrifugiert oder filtriert und ausgewaschen werden. Wenn der Umschlagspunkt nicht genau zu erkennen ist, kann eine vorgelegte Menge 2,6-Dichlorphenolindophenollösung mit der filtrierten Ascorbinsäurelösung, wie von F. GSTRNER<sup>2</sup> angegeben, titriert und aus beiden Titrationen der Mittelwert errechnet werden.

<sup>1</sup> MARX, TH.: Landwirtsch. Forsch. 2, 229 (1951).

<sup>2</sup> GSTRNER, F.: Pharmazie 4, 524 (1949).

Da der Farbstoff nach F. LAUERSEN und W. ORTH<sup>1</sup> gegen Säuren sehr empfindlich ist, haben wir bei unseren Arbeiten streng darauf gesehen, die pH-Werte des zu titrierenden Reaktionsgemisches durch Zugabe der entsprechenden Säuremenge vor der Verreibung stets zwischen 2 und 2,5 zu halten. Vor allen Dingen haben wir Wert darauf gelegt, die Titrations in kürzester Zeit, 1—2 min, zu beenden, um längere „ziehende Titrations“ auszuschalten, die in diesem pH-Bereich für die Anwesenheit „Ascorbinsäure vortäuschender Substanzen“ charakteristisch sind.

Bei unseren l-Ascorbinsäurebestimmungen haben wir die Erfahrung gemacht, daß nicht nur eine größere Zahl von Bestimmungen durchzuführen ist, um einigermaßen zuverlässige Mittelwerte zu erhalten, sondern daß wegen der großen Streubreite und der ungleichmäßigen Verteilung der Ascorbinsäure in frischem Pflanzenmaterial brauchbare Werte erst erhalten werden, wenn man die Bestimmungen mit einer größeren Substanzmenge von gleicher Beschaffenheit, also z. B. von etwa 25 oder 30 g durchführt. Nur bei höherem Ascorbinsäuregehalt kann man von den vorgenannten Zahlen abweichen.

In Tab. 1 haben wir die Mittelwerte der Ascorbinsäuregehalte einer größeren Zahl von Früchten der Jahre 1949 und 1950 nach Natriumchlorid- und nach Sandverreibung mit  $\text{HPO}_3$  als Säurezusatz einander gegenüber gestellt. Zum Vergleich seien aus der Literatur die Ascorbinsäurewerte für Äpfel mit 6,0<sup>2</sup> bzw. 1—27 mg-%<sup>3</sup>, bzw. 9,2 mg-%<sup>4</sup> und für Birnen mit 3,4 mg-%<sup>4</sup> angeführt. — In Tabelle 2 finden sich die für verschiedene Gemüsesorten erhaltenen Werte.

Hierfür wurde zunächst eine größere Zahl von Früchten (10—30 Stück) von möglichst gleichmäßiger und einwandfreier Beschaffenheit aussortiert. Diese Früchte teilten wir dann in zwei der äußeren Beschaffenheit und der Größe nach gleiche Hälften. Die eine Hälfte verrieben wir sofort nach Zusatz von einigen Tropfen 50%iger  $\text{HPO}_3$  mit Natriumchlorid, die andere Hälfte ebenfalls sofort nach Zusatz von einigen Tropfen 50%iger  $\text{HPO}_3$  mit Sand. Der Säurezusatz wurde so bemessen, daß ein pH von 2—2,5 erreicht wurde. Anschließend titrierten wir den mit Natriumchlorid und  $\text{HPO}_3$  verriebenen Pflanzenbrei nach Überspülen mit bidestilliertem Wasser in ein Becherglas direkt mit 2,6-Dichlorphenolindophenol auf einen rosa Farbton. Den Endpunkt der Reaktion haben wir nach R. STROHECKER und R. VAUBEL<sup>5</sup> angenommen, wenn der rosa Farbton innerhalb einer halben Minute (mit der Stoppuhr gemessen) nicht verschwindet. Den mit Sand und  $\text{HPO}_3$  verriebenen Pflanzenbrei behandelten wir nach Überspülen mit bidestilliertem Wasser in ein Zentrifugenglas und Auswaschen des Rückstandes wie üblich und titrierten ein bestimmtes Volumen auf den gleichen rosa Farbton. War der Umschlagspunkt nicht genau zu erkennen, so wandten wir die Rücktitration nach GSTIRNER an.

Die Tabelle zeigt für die mit Natriumchlorid verarbeiteten Früchte meist höhere Werte. In einigen Fällen (Nr. 1, 14, 17, 22, 25 und 28) stimmen die Werte nach beiden Arbeitsweisen innerhalb der Fehlergrenze überein, in anderen Fällen (Nr. 5, 16, 30 und 31) sind die Werte nach der Sandverreibung zum Teil wesentlich höher. Es ist nicht klar ersichtlich, warum die Werte höher liegen können. Unseres Erachtens dürften dafür technische Mängel im Bestimmungsverfahren verantwortlich zu machen sein. In unserer nächsten Abhandlung werden wir darauf zurückkommen.

Die Verwendung von Metaphosphorsäure zur Ascorbinsäurebestimmung wird übrigens von mehreren Autoren, so von CH. MENTZER<sup>6</sup>, und ferner von WERNER G. JAFFÉ, PIERE BUDOWSKI und GAETANO GORRA<sup>7</sup> abgelehnt. Letztere Autoren erhielten bei frischen Pflanzenmaterialien mit Metaphosphorsäure unregelmäßige Ergebnisse.

<sup>1</sup> LAUERSEN, F., u. W. ORTH: Vitamine und Hormone 4, 62 (1943); zit. nach F. GSTIRNER: Chemisch-physikalische Vitaminbestimmungsmethoden. 4. Aufl., S. 155. Stuttgart: Ferdinand Enke 1951.

<sup>2</sup> ABDERHALDEN, E.: Vitamine, Hormone, Fermente. 1. Aufl. S. 81. Berlin und Wien: Urban und Schwarzenberg 1944.

<sup>3</sup> Hoffmann-La Roche & Co.: Vitamin-Vademecum S. 108/109. Basel 1948.

<sup>4</sup> ZIEGELMAYER, W.: Handbuch der Nährwert-Kontrolle. S. 33—35. Berlin: Albert Nauck und Co. 1946.

<sup>5</sup> STROHECKER, R., u. R. VAUBEL: Angew. Chem. 49, 667 (1936).

<sup>6</sup> MENTZER, CH.: Thèse, Paris 1940; ref. nach F. GSTIRNER: Zit. diese S. Anm. 1; daselbst S. 160.

<sup>7</sup> JAFFÉ, W. G., P. BUDOWSKI u. G. GORRA: Arch. venez. Nutricion 1, 83 (1950); ref. in Chem. Zbl. 1951 II, 151.

Tabelle 1. Vergleichende l-Ascorbinsäurebestimmungen in Früchten.

Lfd. Nr.	Fruchtart und Erntejahr	l-Ascorbinsäure	
		nach NaCl-Verreibung mg-%	nach Sand-Verreibung mg-%
<b>Apfel:</b>			
1	Handelsware 1950 . . . . .	3,2	3,3
2	Schöner v. Boskoop, 1949 . . . . .	5,7	1,8
3	Herbstkalvill, 1949 . . . . .	5,0	1,2
4	Roter Herbstkalvill, 1949 . . . . .	3,4	1,4
5	Roter Herbstkalvill, 1950 . . . . .	7,2	8,4
6	Gelber Edelapfel, 1949 . . . . .	4,5	1,8
7	Goldparmäne, 1949 . . . . .	8,4	1,2
8	Minister v. Hammerstein, 1949 . . . . .	5,3	1,2
9	Weißer Klarapfel, 1949 . . . . .	10,2	3,6
10	Königl. Kurzstiel, 1949 . . . . .	6,7	1,8
11	Französ. Renette, 1949 . . . . .	8,3	2,8
12	Herbstrenette, 1949 . . . . .	5,8	1,3
	Mittelwerte aller untersuchten Apfelsorten . . . . .	6,1	2,5
<b>Birne:</b>			
13	Amalins Butterbirne, 1949 . . . . .	3,6	1,2
14	Amalins Butterbirne, 1950 . . . . .	3,1	2,7
15	Grumkower Butterbirne, 1949 . . . . .	5,0	1,2
16	Grumkower Butterbirne, 1950 . . . . .	6,4	7,6
17	Köstl. v. Charneu, 1950 . . . . .	9,6	9,1
18	Gute Graue Birne, 1949 . . . . .	2,6	1,0
19	Gute Graue Birne, 1950 . . . . .	4,2	2,0
20	Sommermagdalene, 1949 . . . . .	6,7	3,9
21	Sparbirne, 1949 . . . . .	3,6	1,2
22	Sparbirne, 1950 . . . . .	3,0	2,5
	Mittelwerte aller untersuchten Birnensorten . . . . .	4,8	3,2
<b>Quitte:</b>			
23	Birnen-Quitte, 1949 . . . . .	30,8	22,6
24	Japan. Quitte, 1949 . . . . .	62,3	56,7
<b>Johannisbeeren:</b>			
25	Weißer Versailler, 1949 . . . . .	67,8	67,2
<b>Pfirsiche:</b>			
26	Frühe Alexander, 1949 . . . . .	16,0	11,8
27	Wildling, 1949 . . . . .	21,5	13,2
<b>Stachelbeere:</b>			
28	Weißer Triumphbeere (vollreif), 1949 . . . . .	34,1	33,8
29	Weißer Triumphbeere (unreif, grün), 1950 . . . . .	62,8	54,1
30	Weißer Triumphbeere (vollreif), 1950 . . . . .	36,2	38,5
31	Weißer Triumphbeere (überreif), 1950 . . . . .	18,6	25,9

Bemerkenswert ist noch die nach beiden Verfahren festgestellte Abhängigkeit des l-Ascorbinsäuregehaltes bei der geprüften Stachelbeersorte (Nr. 29—31 der Tabelle) vom Reifegrad, was mit den Ergebnissen von J. KOCH<sup>1</sup>, nach dem der höchste Vitamin C-Gehalt vor der eigentlichen Reife liegt, übereinstimmt.

<sup>1</sup> KOCH, J.: Ind. Obst- und Gemüseverwertung **36**, 201 (1951).

Tabelle 2. Vergleichende l-Ascorbinsäurebestimmungen in Gemüsen.

Lfd. Nr.	Gemüsesorte und Erntejahr	l-Ascorbinsäure		
		nach NaCl-Verreibung mg-%	nach Sand-Verreibung mg-%	nach Angaben der Literatur mg-%
<b>Blumenkohl:</b>				
1	Handelsware, 1949 . . . . .	86,1	59,9	57,0 <sup>1</sup> ; 40-60-150 <sup>2</sup> ; 37,0 <sup>3</sup>
2	Handelsware, 1950 . . . . .	72,8	47,2	
<b>Kohlrabi:</b>				
3	Handelsware, 1948 . . . . .	63,0	63,1	50,0 <sup>1</sup> ; 37,0 <sup>3</sup>
4	Handelsware, 1949 . . . . .	64,0	55,0	
5	Goliath (grün), 1950 . . . . .	86,9	92,7	
6	Blauer Speck, 1950 . . . . .	79,0	96,8	
<b>Kopfsalat:</b>				
7	Maikönig, 1949 . . . . .	17,9	6,2	8,0 <sup>1</sup> ; 5,8 <sup>3</sup>
8	Maikönig, 1950 . . . . .	13,5	3,6	
<b>Spinat:</b>				
9	Handelsware, 1949 . . . . .	84,0	82,0	44,0 <sup>1</sup> ; 15-45-80 <sup>2</sup> ; 36,0 <sup>3</sup>
<b>Sauerkraut:</b>				
10	Handelsware, 1949 . . . . .	31,5	32,7	13,0 <sup>3</sup> ; 8-20 <sup>4</sup>
11	Handelsware, 1950 . . . . .	39,1	41,9	
12	Salzhaltige Lake der Handelsware von 1950 . . . . .	87,0	92,7	
<b>Zwiebeln:</b>				
13	Zittauer Riesen, 1948 . . . . .	7,7	8,8	6,2 <sup>3</sup>
14	Zittauer Riesen, 1950 . . . . .	5,5	9,2	
15	Handelsware, 1949 . . . . .	11,7	13,4	

Von den in Tab. 2 angeführten Gemüsesorten haben wir je 10—20 gleichwertige Muster von je 25—30 g gezogen und nach den vorstehend beschriebenen Methoden die l-Ascorbinsäure bestimmt. Nur bei Nr. 3 und 9 stimmen die gefundenen Zahlen innerhalb der Fehlergrenze überein. In fünf Fällen (Nr. 1, 2, 4, 7 und 8) wurden mit der Natriumchloridverreibung wesentlich höhere Ascorbinsäurewerte erhalten, in einer Reihe anderer Fälle (Nr. 5, 6, 10, 11, 12, 13, 14 und 15) wurde das gleiche mit der Sandverreibung erhalten. Wir möchten diese unregelmäßigen Ergebnisse bis auf weiteres ebenfalls den technischen Mängeln des Verfahrens mit Sand zuschreiben.

#### Zusammenfassung.

Bei der l-Ascorbinsäurebestimmung wurde die bisher übliche Sandverreibung durch eine Verreibung mit kristallisiertem Natriumchlorid ersetzt. Die Werte der Natriumchlorid-Verreibung lagen im allgemeinen höher.

<sup>1</sup> ABDERHALDEN, E.: Zit. S. 316, Anm. 2.

<sup>2</sup> Hoffmann-La Roche und Co.: Zit. S. 316, Anm. 3.

<sup>3</sup> ZIEGELMAYER, W.: Zit. S. 316, Anm. 4.

<sup>4</sup> DILLER, H.: Diese Z. 90, 180 (1950).