

FOTOMETRICKÉ STANOVENIE METANOLU VEDĽA ETANOLU

IVAN ODLER

Katedra súdneho lekárstva Univerzity Komenského v Bratislave

Kvantitatívne stanovenie metanolu vedľa etanolu má značný praktický význam predovšetkým v toxikologickej a potravinárskej analýze. Tu býva chemik stavaný pred úlohu vyšetrovať alkoholický nápoj s obsahom metanolu, keďže požitie podobného nápoja býva najčastejšou príčinou pomerne častých otráv metylalkoholom. Je zrejmé, že sa pri tom nemôžeme uspokojiť s púhym kvalitatívnym dôkazom, najmä ak uvážime, že metanol sa často vyskytuje v stopách i ako prirodzená zložka alkoholických nápojov. Na kvantitatívne stanovenie metanolu vedľa etanolu bolo už opísaných viac metód [1, 2, 3, 4], ktoré sú však málo presné na stanovenie menších množstiev, na čo sa najvhodnejšou zdá metóda kolorimetrická, opierajúca sa o vhodnú a citlivú farebnú reakciu.

Keďže nemáme k dispozícii vhodnú farebnú reakciu špecifickú pre metanol v prítomnosti etanolu, dokazujeme spravidla formaldehyd, vznikajúci oxydáciou metanolu. Je pritom potrebné použiť reakciu, ktorá je pre formaldehyd špecifická i v prítomnosti acetaldehydu, vznikajúceho súčasne s formaldehydom oxydáciou etanolu. Z reakcií prichádzajúcich do úvahy za najcitlivejšiu a najspolahlivejšiu sa pokladá reakcia s kyselinou fuksínsiričitou, ktorá v silne kyslom prostredí dáva s formaldehydom charakteristické fialové sfarbenie. Táto dôležitá reakcia sa už dost podrobne študovala. Skúmal sa jej chemizmus [5], priebeh extinkčnej krivky [5, 6, 7], závislosť od času [8], od teploty [9], ďalej sa skúmali faktory ovplyvňujúce citlivosť činidla [10, 11] a dokázalo sa, že výsledné sfarbenie závisí od celého radu činiteľov.

Táto reakcia, bežne používaná pri kvantitatívnom stanovení formaldehydu, bola už navrhnutá i na kvantitatívne stanovenie metanolu vedľa etanolu [12, 13], a to tak, že sa výsledné sfarbenie porovnáva so sfarbením vyvolaným pri roztokoch známeho zloženia za presného zachovávania rovnakých experimentálnych podmienok. Vplyv oxydačných podmienok na výsledné sfarbenie sa však dosiaľ podrobnejšie neskúmal. Preto sme pokladali za potrebné zistiť tu panujúce zákonitosti a tak vyšetriť možnosť exaktného fotometrického stanovenia a určiť, za akých podmienok je uvedená reakcia najcitlivejšou.

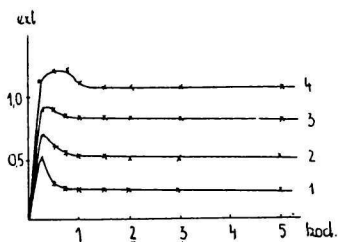
Experimentálna časť

Z možných spôsobov oxydácie metanolu na formaldehyd volili sme ten, pri ktorom sa ako oxydačné činidlo používa roztok manganistanu draselného v prostredí kyseliny sírovej. Na prerušenie oxydácie a odfarbenie reakčného prostredia sme volili nasýtený roztok kyseliny šťavelovej, teda postup podobný kvalitatívnemu dôkazu metanolu podľa Denigèsa [12, 14]. Manganistan draselný sme použili vo forme roztoku a nie vo forme

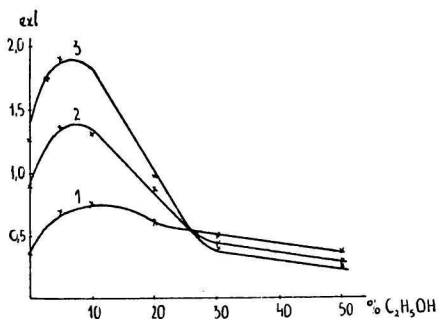
prášku vzhľadom na presnejšie dávkovanie; kyselinu šťavelovú sme použili preto, lebo ňou možno oxydačný dej po ľubovoľnej dobe takmer okamžite prerušiť.

Štandardný postup sme upravili takto: K 10 ml 1 % roztoku metanolu v 30 % etanole sme pridali 20 ml 20 % H_2SO_4 , nato 10 ml 10 % $KMnO_4$ a nechali bez zahrievania prebiehať oxydáciu. Po 5 minútach sme oxydačný dej prerušili prídavkom 10 ml nasýteného roztoku kyseliny šťaveľovej a po odfarbení sme pridali 20 ml Schiffovho činidla. Vzniknuté sfarbenie sme stanovovali po doplnení na 100 ml po 1 hodine Pulfrichovým fotometrom v 20,3 mm kvete za použitia filtra S-57.

V uvedenom spôsobe sme postupne menili jednotlivé závislosti a tak sme sledovali ich vplyv na výsledné sfarbenie. Týmto postupom sme vyšetrili časový priebeh vzniknutého sfarbenia, závislosť sfarbenia od množstva prítomného metanolu a etanolu, od množstva pridanej kyseliny sírovej a manganistanu draselného, od doby oxydácie, ako aj od množstva pridanej kyseliny šťaveľovej a konečne od množstva pridávaného činidla. Grafické znázornenie nájdených závislostí vyjadruje vplyv vyšetrovaného činiteľa na extinkciu roztoku.



Graf 1. Časový priebeh extinkcie pre roztoky s obsahom metanolu: (1) 0,5, (2) 1,0, (3) 1,5, (4) 2,0 % metanolu.



Graf 2. Vplyv etanolu na extinkciu: (1) 15 min., (2) 30 min., (3) 60 min. po pridaní činidla.

Ako je zrejmé z grafu 1, znázorňujúceho časový priebeh extinkcie, intenzita sfarbenia stúpa spočiatku prudko od nuly až do určitého maxima. Nato po miernom poklese nadobúda asi po jednej hodine sfarbenie, ktoré sa už ďalej nemení. Štyri krivky odpovedajú rozličnému obsahu metanolu a zreteľne znázorňujú úmernosť extinkcie od jeho koncentrácie.

Aj keď sám etanol v takom kyslom prostredí, aké sme používali, nedáva s kyselinou fuksínsiričitou nijaké sfarbenie, jednako sme pozorovali jeho značný vplyv na intenzitu výsledného sfarbenia.

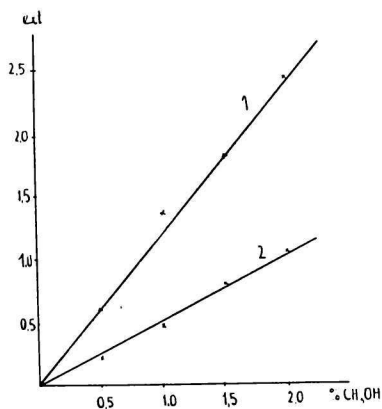
Predovšetkým sme si mohli overiť pozorovanie G. Fendlera a C. Mannicha [16], podľa ktorých prítomnosť etanolu zabraňuje ďalšej oxydácie predtým vzniknutého formaldehydu. Napríklad jednoodinovým účinkom 10 ml 10 % roztoku $KMnO_4$ na 10 ml 1 % roztoku metanolu za neprítomnosti etanolu nebolo možné dokázať už ani stopy formaldehydu, na rozdiel od roztoku obsahujúceho etanol.

Tento účinok etanolu je zrejмый i z grafu 2, ktorý znázorňuje extinkciu v závislosti od etanolu za konštantného množstva metanolu. Maximálna extinkcia leží medzi 6—10 % etanolu a znížením jeho hladiny strmo klesá v dôsledku ďalšej oxydácie formaldehydu. Naproti tomu však i ďalšie zvýšenie obsahu etanolu má za následok najprv strmý, neskôr

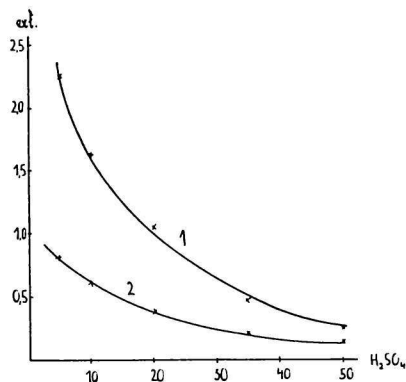
(nad 30 %) mierny pokles extinkcie. Je zrejmé, že sa tu stýkajú dva účinky etanolu, a to jednak účinok katalytický, zabraňujúci ďalšej oxydácii prítomného formaldehydu, jednak účinok otupujúci citlivosť reakcie medzi formaldehydom a kyselinou fuksínsiričitou.

Tri krivky na grafe znázorňujú závislosť extinkcie od množstva prítomného etanolu po rozličných dobách po pridani činidla. Badať na nich zaujímavý zjav. Zatiaľ čo sa pre koncentrácie nad 30 % definitívna extinkcia už po 15 minútach takmer ustáli a neskôr iba mierne klesne (pozri aj graf 1), pri roztokoch s nižším obsahom etanolu stúpa extinkcia i ďalej a ustáli sa až asi po 1 hodine; pokles extinkcie pri týchto koncentráciách nenastáva. To má za následok pomerne malú závislosť extinkcie od obsahu etanolu po 15 minútach, zatiaľ čo definitívna extinkcia značne závisí od obsahu alkoholu.

V oblasti, ktorú sme vyšetrovali, pozorovali sme lineárnu závislosť extinkcie od obsahu metanolu. Výhoda tejto skutočnosti je pre kvantitatívne stanovenie zrejmá. V dôsledku vplyvu etanolu na výsledné sfarbenie odpovedajú však rozličným jeho koncentráciám rozličné extinkčné krivky, líšiace sa svojím sklonom. Graf 3 znázorňuje závislosť extinkcie od obsahu metanolu pre 10 a 30 % koncentráciu etanolu.



Graf 3. Závislosť extinkcie od metanolu v roztokoch s obsahom: (1) 10, (2) 30 % etanolu.



Graf 4. Vplyv kyseliny sírovej (v ml 20 % roztoku) na extinkciu roztokov s obsahom: (1) 0, (2) 30 % etanolu.

Z grafu 4, ktorý znázorňuje závislosť extinkcie od množstva kyseliny sírovej pre čistý metanol, ako aj metanol s 30 % etanolu, je zrejmý nepriaznivý vplyv kyseliny na výsledné sfarbenie. Špecifickosť reakcie však vyžaduje, aby sme s koncentráciou kyseliny nešli pod určitú hranicu; v opačnom prípade nastáva totiž príslušné sfarbenie i prítomným acetaldehydom vzniknutým z etanolu, ktoré skresľuje dôkaz súčasne prítomného formaldehydu.

Podľa našich pozorovaní treba na vylúčenie vplyvu ostatných aldehydov pridať aspoň také množstvo kyseliny sírovej, ktoré by približne odpovedalo jednonormálnej koncentrácii výsledného roztoku.

Ako vyplýva z grafu 5 (1), so stúpajúcim množstvom KMnO₄ klesá výsledná extinkcia, a to lineárne. Tento pokles je však nepatrný.

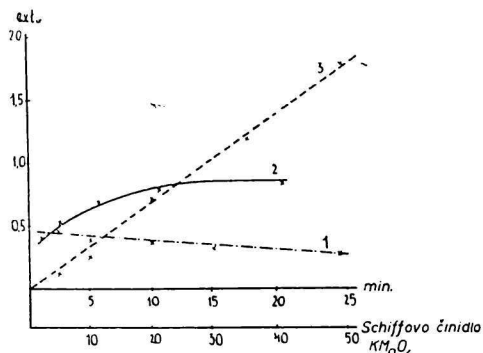
Z grafu 5 (2) je opäť zrejmé, že doba pôsobenia KMnO₄ priaznivo ovplyvňuje výsledné sfarbenie. Tento vplyv nie je značný a predlžovanie doby oxydácie nad určitú hranicu je zbytočné.

Kyselina šťavelová, slúžiaca na prerušenie oxydácie a na odfarbenie reakčného prostredia, nemá vplyv na citlivosť reakcie.

Podľa očakávania výsledné sfarbenie stúpa so stúpajúcim množstvom pridaného Schiffovho činidla (graf 5 (3)).

Činidlo sa pripravuje odfarbením trifenylmetánového farbiva (obvykle 0,01 % roztok fuksínu) kyslíčnikom siričitým alebo siričitanmi, resp. kyslími siričitanmi v kyslom prostredí, pričom kvalita rozlične pripravených činidiel je približne rovnaká. Keďže sa však rozličné činidlá, hoci pripravené rovnakým postupom, svojou citlivosťou navzájom dost značne líšia, treba pri stanovení použiť to isté činidlo, s ktorým bola pripravená i extinkčná krivka.

Ďalej treba upozorniť aj na to, že citlivosť činidla sa časom zväčšuje [10, 11], zmena citlivosti však prebieha pomerne pomaly. Činidlo treba uchovávať vo tme.



Graf 5. (1) Závislosť extinkcie od $KMnO_4$ (v ml 10% roztoku).—(2) Závislosť extinkcie od doby oxydácie. — (3) Vplyv činidla na výslednú extinkciu.

Diskusia

Pri vyšetrowaní sfarbenia, ktoré dáva metanol po oxydácii na formaldehyd s kyselinou fuksínsiričitou, sme zistili, že ide o reakciu veľmi chústovú, ktorá značne závisí od experimentálnych podmienok. Maximálnu citlivosť reakcie možno dosiahnuť pri týchto podmienkach:

1. Okrem metanolu má byť v prostredí prítomné i malé množstvo etanolu. Nadbytok etanolu však citlivosť reakcie znižuje.

2. Kyselina sírová sa nemá použiť vo veľkom nadbytku. Špecifickosť reakcie však vyžaduje zachovať aspoň určitú minimálnu koncentráciu (pozri vyššie).

3. Od množstva kyseliny šťaveľovej nezávisí sfarbenie vôbec, od manganistanu draselného veľmi málo.

4. So stúpajúcou dobou účinku manganistanu draselného intenzita sfarbenia mierne stúpa.

5. Nadbytok činidla silne zvyšuje citlivosť reakcie.

Využívajúc tieto poznatky, podarilo sa nám v roztoku s obsahom 0,01 % metanolu vyvolať ešte zreteľné sfarbenie. Citlivosť, pravda, do značnej miery závisí aj od činidla, ktoré máme k dispozícii.

Pre možnosť kvantitatívneho stanovenia je veľkou nevýhodou skutočnosť, že výsledné sfarbenie závisí od množstva prítomného etanolu, ktorý v alkoholických nápojoch značne kolíše (a tie prichádzajú najčastejšie do úvahy ako

objekty stanovenia). To vyvoláva potrebu aspoň približného predchádzajúceho stanovenia obsahu etanolu skôr, než pristúpime ku stanoveniu metanolu.

Časový priebeh extinkcie vyžaduje merať buď v určitej presnej dobe po pridaní činidla, alebo čo pokladáme za vhodnejšie, v dobe, keď sa sfarbenie definitívne ustáli, t. j. asi po 1 hodine.

Pre kvantitatívne stanovenie ako najvhodnejší pokladáme tento postup:

K 10 ml skúmaného roztoku sa pridá 20 ml 20 % H_2SO_4 a 10 ml 10 % $KMnO_4$. Po 5 minútach sa reakčná zmes odfarbí práve potrebným množstvom nasýteného roztoku kyseliny šťavelovej a pridá sa 20 ml činidla. Nato sa doplní vodou do 100 ml a po jednej hodine sa stanovuje extinkcia. Pri fotometrickom stanovení sa použije filter S-57. Ako porovnávací roztok vyhovuje voda. Zo zmeranej extinkcie sa zistí koncentrácia podľa extinkčnej krivky. Túto treba získať pomocou porovnávacích roztokov obsahujúcich rovnaké množstvo etanolu ako skúmaný roztok.

Uvedený postup sa hodí pre roztoky s obsahom metanolu od 0,1—0,2 % do 2—3 %. Pri stanovení väčších množstiev používame úmerne menšie množstvo skúmaného roztoku, kým pri stanovení roztokov s menším obsahom bude potrebné metanol zahustiť destiláciou.

Záverom treba konštatovať, že reakciu s kyselinou fuksínsiričitou síce možno použiť na kvantitatívne stanovenie metanolu, avšak presné výsledky možno získať iba pri starostlivom zachovávaní postupu za použitia rozličných extinkčných kriviek pre roztoky s rôznym obsahom etanolu a za použitia rovnakého činidla pre meranie i prípravu extinkčnej krivky.

Сúhrn

V práci sa zistili závislosti ovplyvňujúce sfarbenie, ktoré poskytuje kyselina fuksínsiričitá s metanolom po jeho oxydácii na formaldehyd v prítomnosti etanolu, a určili sa podmienky maximálnej citlivosti tejto reakcie, ako aj možnosti jej použitia na kvantitatívne stanovenie.

ФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТАНОЛА В ПРИСУТСТВИИ ЭТАНОЛА

ИВАН ОДЛЕР

Кафедра судебной медицины Коменского университета в Bratislave

Выводы

Были изучены зависимости оказывающие влияние на окрашивание, которое способствует фуксинсернистая кислота в присутствии метанола после его окисления на формальдегид в присутствии этанола и были исследованы условия максимальной чувствительности этой реакции а также и возможность ее использования к количественному определению.

Поступило в редакцию 23. IX. 1954

PHOTOMETRISCHE BESTIMMUNG VON METHANOL NEBEN ÄTHANOL

IVAN ODLER

Lehrstuhl für Gerichtsmedizin an der Komenský-Universität in Bratislava

Zusammenfassung

Es wurden die Abhängigkeiten untersucht, welche die durch fuchsinschweflige Säure mit Methanol nach dessen Oxydation zu Formaldehyd in Gegenwart von Äthanol erhaltenen Färbungen beeinflussen. Weiters wurden die Bedingungen sowohl der maximalen Empfindlichkeit dieser Reaktion, als auch die Möglichkeit ihrer Anwerdung zur quantitativen Bestimmung untersucht.

In die Redaktion eingelangt den 23. IX. 1954

LITERATÚRA

1. Hepter J., Z. Untersuch. Nahrgrs.-u. Genussm. 24, 131 (1912). 2. Meyerfeld J., Chem. Ztg. 37, 649 (1912). 3. Nicloux M., Bull. Soc. chim. Paris, 3. ser. T 35, 330 (1906). 4. Völtz W., Förster R., Baudrexel A., Arch. ges. Phys. 133 (1910). 5. Wieland H., Scheuing G., Ber. 54, 2527 (1921). 6. Hoffpauir C., Buckaloo G. W., Gauthrie J. D., Ind. Eng. Chem., Anal. Ed. 15, 605 (1943). 7. Segal L., Anal. Chem. 23, 1499 (1951). 8. Walker J. F., *Formaldehyde*, New York 1944. 9. Büchi J., Pharm. Acta Helv. 6, 1 (1931). 10. Tobie W. C., Ind. Eng. Chem., Anal. Ed. 14, 405 (1942). 11. Atkinson W. B., Stain Technol. 27, 153 (1952). 12. Fellenberg T., Biochem. Z. 85, 45 (1918). 13. Reif G., Z. Untersuch. Lebensmitt. 51, 267 (1926). 14. Denigès G., C. r. Acad. sci. 150, 832 (1910). 15. Fendler G., Mannich C., Arb. pharmaz. Inst. Berl. 3, 243 (1906).

Došlo do redakcie 23. IX. 1954

KOLORIMETRICKÉ STANOVENIE TRYPAFLAVÍNU

FRANTIŠEK SOKOL

Virologický ústav Československej akadémie vied v Bratislave

Pri purifikácii chrípkového vírusa jeho vyzrážaním vodnými roztokmi trypaflavínu z infikovanej alantoidkej tekutiny [1] bolo treba nájsť rýchlu a presnú metódu na stanovenie trypaflavínu v tekutine nad zrazeninou po odstredení vyzrážaného komplexu vírusu chrípký s trypaflavínom.

V literatúre je opísaných viac metód na kvantitatívne stanovenie trypaflavínu. Väčšina z nich sa zakladá na vyzrážaní trypaflavínu dvojchrómanom draselným [2, 3], ferikyamidom draselným [4, 5] alebo kyselinou pikrovou [6] a na spätnej titracii nespotrebovaného činidla. Ellis [7] stanovuje trypaflavín gravimetricky zrážaním kyselinou pikrovou. Všetky tieto metódy sú